

FASCIOLIASI EPATICA NEL DAINO (*Dama dama*)*

Hepatic fascioliasis in fallow-deer (*Dama dama*)

DI MARTINO R.*, CANTILE C.*, PAPINI R.**, POLI A.*

* Dipartimento di Patologia Animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti e

** Istituto di Clinica Medica Veterinaria
Facoltà di Medicina Veterinaria - PISA

INTRODUZIONE

La distomatosi epatica è una malattia parassitaria diffusa in tutto il mondo, frequentemente segnalata anche in Italia sia nei ruminanti domestici che selvatici. Nel nostro paese, le specie di trematodi ritenute responsabili di questa patologia nei selvatici sono *Fasciola hepatica* (Rossi, 1982), *Dicrocoelium dendriticum* e *Fascioloides magna* (Leinati e Finazzi, 1976; Balbo et al., 1981).

Tra i ruminanti selvatici presenti in Toscana, il daino (*Dama dama*) è una delle specie più diffuse. Gruppi di questi animali, alcune volte anche numerosi, sono solitamente riuniti in poche aree ben delimitate. La Tenuta Presidenziale di San Rossore è una di queste aree: è situato nelle vicinanze della costa tirrenica tra Pisa e Viareggio, presenta un clima umido e ospita una numerosa colonia di daini. In considerazione dell'eccessivo carico di animali, ogni anno, vengono attuati piani di abbattimento e parte dei soggetti uccisi, sono stati utilizzati per lo studio delle principali patologie che interessano questa popolazione.

Negli anni passati, nella popolazione di daini di questo parco naturale è stata segnalata la distomatosi da *F. hepatica* (Guberti et al., 1990), ma fino ad oggi non sono stati compiuti studi sistematici sulle lesioni causate dal parassita. Le osservazioni condotte su un congruo numero di soggetti hanno permesso di rilevarne alcune caratteristiche, in particolare per quanto riguarda l'aspetto macroscopico ed istologico e la localizzazione anatomica.

* Ricerche effettuate con Contributo della Regione Toscana, anno 1993.

MATERIALI E METODI

Sono stati esaminati i fegati prelevati da 53 daini uccisi nell'ambito degli abbattimenti previsti in un periodo di tempo compreso tra gennaio e marzo 1993. I fegati dei soggetti abbattuti sono stati sottoposti ad attento esame macroscopico: i visceri interessati dalla parassitosi sono stati in parte utilizzati per le indagini parassitologiche, raccolta e misurazione dei parassiti, ed in parte fissati in formalina tamponata a pH 7,4. Porzioni significative delle diverse lesioni e macrosezioni sono state incluse in paraffina, sezionate a 4 μm e colorate con ematossilina-eosina, con van Gieson, con Alcian-PAS e con la tricromica di Masson modificata secondo Goldner.

RISULTATI

Già all'esame macroscopico 23 dei 53 fegati di daino esaminati (43%) presentavano lesioni parassitarie caratterizzate da dilatazioni cistiche dei dotti biliari, in genere con diametro non superiore ai 4-5 cm e di colore biancastro. Queste lesioni interessavano prevalentemente la parte sinistra del fegato ed erano localizzate costantemente alla periferia dell'organo e, solo nei casi più gravi, si spingevano verso l'ilo. Al taglio i dotti epatici di medio calibro apparivano dilatati e contenevano materiale poltaceo brunastro e numerosi parassiti. Questi presentavano una lunghezza media di $2,4 \pm 0,8$ cm ed una larghezza di $1 \pm 0,3$ cm: sulla base di queste e di altre caratteristiche morfologiche sono stati identificati come esemplari adulti di *F. hepatica*. Solo in pochi casi si è potuto rilevare anche un interessamento della glissoniana, caratterizzato da ispessimento ed opacità, come conseguenza di fenomeni infiammatori cronicizzanti e probabilmente anche in relazione alla recente migrazione delle adolescenti. I linfonodi epatici apparivano costantemente aumentati in volume e con un'evidente pigmentazione brunastra della corticale, tipica della linfadenite iperplastica parassitaria indiretta.

Istologicamente era possibile apprezzare angiocolite catarrale con iperplasia delle ghiandole mucipare, sfaldamento dell'epitelio di rivestimento e la presenza di un limitato infiltrato costituito da granulociti neutrofili, macrofagi e rari eosinofili. I dotti si presentavano dilatati e con parete sottile: l'apposizione di connettivo fibroso alla periferia dei dotti era molto modesta, talvolta associata ad una modica iperplasia della tonaca muscolare.

La notevole dilatazione dei dotti provocava evidenti fenomeni di compressione delle filiere epatiche, in alcuni casi condizionante atrofia del parenchima.

Talvolta è stato possibile mettere in evidenza la presenza nel parenchima di tragitti necrotici causati dalla migrazione del parassita ed una periepatite fibrinosa cronica.

CONCLUSIONI

Le indagini condotte hanno consentito di confermare la presenza nella popolazione di daini della Tenuta Presidenziale di San Rossore della distomatosi epatica da *F. hepatica*. L'infestazione anche in questo caso ha presentato una elevata prevalenza (43%). È interessante rilevare che non tutta la popolazione di daini del parco è colpita dalla parassitosi che è presente solo in quelle aree ove particolari condizioni del territorio favoriscono la sopravvivenza dell'ospite intermedio (Apollonio M., comunicazione personale).

Le lesioni osservate sono in gran parte sovrapponibili ai quadri classici della distomatosi nelle diverse specie, caratterizzati, nella fase di migrazione, da tragitti emorragico-necrotici ed interessamento della glissoniana e, nella fase di localizzazione del parassita adulto, da angiocolite catarrale dovuta all'azione meccanico-traumatica del parassita.

Le lesioni riscontrate nel daino presentano però alcune peculiarità: in primo luogo risultano caratterizzate prevalentemente da dilatazione dei dotti biliari con una scarsa produzione di connettivo neoformato e secondariamente presentano una costante distribuzione alla periferia dell'organo.

Come rilevato da alcuni Autori in altri cervidi (Dunn, 1987), anche nel daino a differenza di quanto avviene solitamente nel bovino, si ha una limitata apposizione di connettivo fibroso alla periferia delle pareti dei dotti. Questa ridotta produzione di connettivo condiziona, come nella pecora, nel suino e nel cavallo (Kelly, 1992), la dilatazione dei dotti per l'azione meccanica del parassita, della bile, dell'essudato e dei detriti cellulari.

La distribuzione delle lesioni alla periferia dell'organo risulta, a nostro avviso, legata al particolare decorso che i dotti biliari presentano in questa specie. Come abbiamo potuto verificare realizzando alcune radiografie dopo aver iniettato del liquido radio-opaco nei dotti, nel daino, specie sprovvista di cistifellea come tutti i cervidi, il coledoco raccoglie il condotto epatico destro e sinistro che arrivano dalla periferia dell'organo ove raccolgono la bile dei dotti biliari provenienti dai vari distretti dell'organo. Una possibile spiegazione della particolare distribuzione delle lesioni potrebbe essere legata alla selettiva localizzazione del parassita nei dotti biliari di medio calibro o trovare ragione nelle particolari caratteristiche anatomiche dei dotti stessi: dotti con una parete connettivale sottile che si dilatano

con maggiore facilità rispetto ai dotti di dimensioni maggiori, eventualmente anche in rapporto alla modesta reattività sclerosante che può originare da tale parete.

Ulteriori indagini, condotte su un numero più elevato di fegati e lo studio delle lesioni a diverso stadio evolutivo, potranno forse chiarire quale di queste ipotesi è la più plausibile per spiegare la particolare localizzazione delle lesioni riscontrate in questa specie.

RIASSUNTO

Indagini compiute sul fegato di 53 daini (*Dama dama*) abbattuti nella Tenuta Presidenziale di San Rossore (Pisa), hanno consentito di rilevare un'elevata prevalenza (43%) di distomatosi epatica sostenuta da *Fasciola hepatica*. Le lesioni riscontrate, caratterizzate da dilatazioni cistiche dei dotti biliari di medio calibro con scarsa fibrosi, erano prevalentemente distribuite a carico del lobo sinistro e presentavano una caratteristica localizzazione alla periferia dell'organo. Sulla base dei risultati delle indagini condotte è possibile ipotizzare che nel daino il particolare aspetto macroscopico delle lesioni, sia riconducibile, come nella pecora, nel suino e nel cavallo, alla ridotta produzione di nuovo tessuto connettivo, mentre la localizzazione delle lesioni, distribuite alla periferia dell'organo, potrebbe essere correlata al particolare decorso dei dotti biliari in questa specie.

SUMMARY

Fasciola hepatica infection has been diagnosed in 43% of 53 fallow-deer (*Dama dama*), killed in the Presidential Reserve of San Rossore (Pisa, Tuscany, Italy). Hepatic lesions were characterized by the presence of localized areas of bile ducts ectasia at the periphery of the organs. These dilatations are probably permitted by the relative paucity of new connective tissue formation in the walls of biliary ducts in this species as well as in sheep and horses. The typical distribution of the lesions may be related to the course of biliary ducts in this cervid.

BIBLIOGRAFIA

- 1) **Balbo T., P. Lanfranchi, L. Rossi, P.G. Meneguz**. Health management of a red deer population infected by *Fascioloides magna* (Bossi, 1975) Ward, 1917. Ann. Fac. Med. Vet. di Torino 1987, 32: 23-33.
- 2) **Dunn, A.M.** 1987. Liver fluke. In *Management and diseases of deer. A handbook for veterinary Surgeon*. Ed. Alexander T.L., pp. 91-93.
- 3) **Guberti V., A. Giovannini, M. Amicarella e M. Apollonio**. Fenomenologia dell'emissione di uova di *Fasciola hepatica* nel daino (*Dama dama*) nella Tenuta Presidenziale di San Rossore, Pisa, Italia. Atti del XVI Congress. Soc. Ital. Parassitologia, 1990, 32: (Suppl. 1): 145-146.
- 4) **Kelly W.R.** 1992. The liver and biliary system. In *Pathology of domestic animals*. Jubb K.V.F., Kennedy P.C., e Palmer N. Eds., 4th ed. Academic Press, Inc. pp. 376-381.
- 5) **Leinati L., M. Finazzi**. Contributo alla conoscenza delle lesioni epatiche da *Distomum magnum* (*Fascioloides magna*) nel cervo (*Cervus elaphus*). Clin. Vet. 1976, 99: 97-101.
- 6) **Rossi L.** Considerazioni sul ruolo giocato dal coniglio selvatico (*Oryctolagus cuniculus*) nell'epidemiologia dell'infestazione da *Fasciola hepatica* nel parco Regionale "La Mandria". Atti Soc. Sci. Vet. 1982, 36: 668-670.

METODICHE DI CENSIMENTO PER LA GESTIONE ED IL CONTROLLO SANITARIO DELLE POPOLAZIONI DI LEPRI *

Census methods for management and health control of brown hare populations

BONARETTI R., SANTINI S., POLI A.

Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Profilassi degli Alimenti
Facoltà di Medicina Veterinaria - PISA

INTRODUZIONE

Il crescente interesse e l'aumento della sensibilità sviluppatasi nei confronti della tutela ambientale e la necessità di una migliore gestione del patrimonio faunistico e del prelievo venatorio ha da tempo posto il problema di una più precisa conoscenza delle numerose interazioni che condizionano la stabilità e lo sviluppo delle popolazioni di selvatici. Numerosi studi ed osservazioni hanno evidenziato come la densità di individui di una popolazione di selvatici non rimanga costante nel tempo, ma risulti influenzata da fattori di diversa natura che possono incidere sulla dinamica di popolazione. Tra questi assumono una notevole rilevanza le carenze alimentari, l'andamento climatico, la presenza di predatori e di specie che possono competere per le disponibilità alimentari, l'uso di sostanze nocive in agricoltura e, non ultimo, l'incidenza delle diverse patologie infettive ed infestive.

La necessità di conoscere, il più esattamente possibile, il numero di individui che compongono una determinata popolazione di selvatici ha favorito lo sviluppo di varie metodiche di censimento. Queste indagini, atte a fornire informazioni sulla reale consistenza di molte specie animali di interesse venatorio, costituiscono un valido mezzo per la gestione del patrimonio faunistico e per adeguare il prelievo venatorio alle reali consistenze della selvaggina.

L'evoluzione delle tecniche di censimento ha sostanzialmente seguito criteri legati alla possibilità di attuare queste indagini con una riduzione sia del numero degli operatori direttamente coinvolti che dei tempi di svolgimento. L'attuazione di tali tecniche rimane comunque legata ad alcuni fattori che ne determinano il

* Ricerche effettuate con il Contributo dell'Amministrazione Provinciale di Pisa, anno 1993.

grado di affidabilità, quali: la dimensione dell'area di studio, l'etologia della specie, la densità della popolazione, la distribuzione degli individui e soprattutto la morfologia del territorio.

Sulla base di queste caratteristiche viene effettuata la scelta del tipo di censimento da utilizzare. In altre parole, in rapporto al tipo di indagine che deve essere attuata, è possibile stimare la densità di una determinata popolazione di selvatici utilizzando censimenti completi, censimenti su aree campione oppure censimenti per indici. La valutazione del numero di individui presenti in un'area in un determinato momento, può essere effettuata mediante censimenti diretti, che presuppongono un conteggio diretto degli animali, o per mezzo di rilevamenti indiretti quali la presenza di impronte, tane, covi, ed escrementi che pur non fornendo dati precisi sulla densità di popolazione appaiono comunque efficaci nelle stime di presenza relativa (Ferri, 1988; Meriggi, 1989).

MATERIALI E METODI

Le indagini da noi svolte, nell'ambito di una convenzione con l'Amministrazione Provinciale di Pisa per il controllo sanitario e lo studio della dinamica di popolazione della lepre, sono state condotte utilizzando il metodo del censimento notturno con uso di una sorgente di luce, perchè questo selvatico si alimenta, nelle ore notturne, al pascolo ed è per questo motivo più facilmente censibile (Frylestam, 1981; Barnes e Tapper, 1985). Questo tipo di indagine, già introdotto nella provincia di Pisa, per studi effettuati in alcune zone campione (Poli et al., 1989; Verdone et al., 1991), è stato esteso a tutte le Zone di Ripopolamento e Cattura e alla Aziende Faunistico Venatorie a preminente vocazione faunistica presenti sul territorio provinciale.

Parallelamente alle indagini sulla densità delle popolazioni di lepri è stata attuata una valutazione della vocazionalità ambientale per questo selvatico. La valutazione dei piani colturali in atto e lo studio dell'uso del suolo, secondo una metodica già utilizzata dall'I.N.F.S (Trocchi, comunicazione personale) e dalla D.R.E.A.M (Mattioli et al., 1991), ha consentito di formulare un punteggio di vocazione, rappresentativo delle diverse tipologie ambientali. Per la determinazione di questo punteggio alle aree con diversa vocazionalità per il selvatico è stato assegnato un diverso valore:

- superfici agricole caratterizzate dalla presenza di seminativi con basso grado di monocoltura, prati naturali, prati di foraggiere, arborati, vigneti e colture pabulari, con estensione degli appezzamenti inferiore ai 4-6 ha, anche alternati

a piccole superfici boschive o cespugliati:
grado di vocazione alto, punti 4.

- superfici ad agricoltura intensiva con dimensione degli appezzamenti compresa fra 7-10 ha, presenza di estese aree pascolative recintate, scarsa presenza di siepi e cespugliati naturali, attuazione di coltivazioni industriali con moderato utilizzo di trattamenti chimici, presenza di superfici boschive composte di appezzamenti con superficie compresa fra 10-50 ha e poco alternate con i coltivi:
grado di vocazione medio, punti 2.
- superfici ad agricoltura intensiva con elevato grado di monocoltura di cereali autunno-vernini, mais e colture industriali; elevato impiego di sostanze chimiche, appezzamenti con superfici medie superiori ai 10 ha, presenza di superfici boschive con estensioni superiori ai 50 ha:
grado di vocazione basso, punti 1.
- superfici fortemente urbanizzate, terreni nudi, discariche, cave e zone di estrazione, superfici improduttive:
grado di vocazione nullo, punti 0.

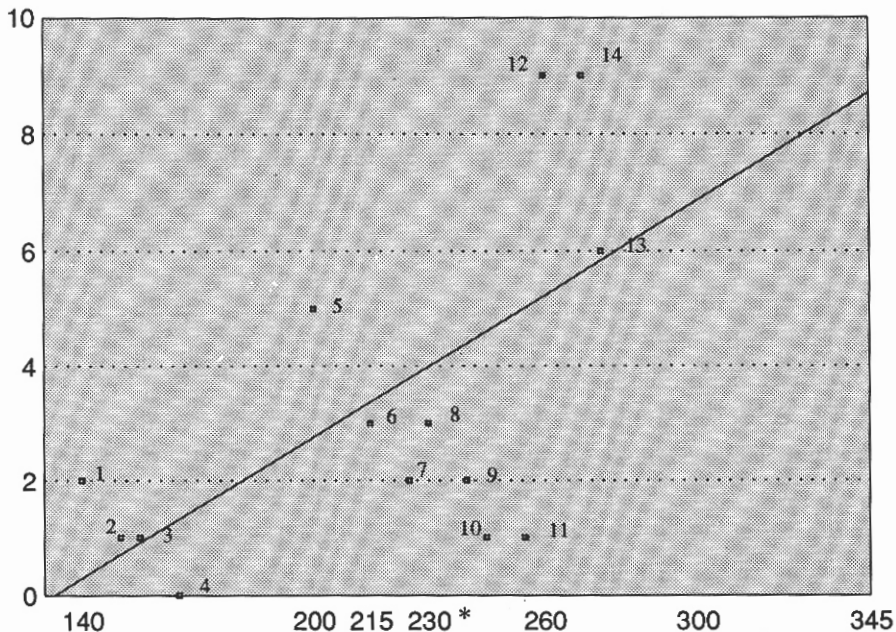
Successivamente è stata calcolata la presenza percentuale di ogni classe di vocazione all'interno di ogni istituto, moltiplicandola poi per i relativi punteggi; sommando i punteggi parziali così ricavati, è stato ottenuto per ogni zona, un punteggio medio di vocazione che esprime sinteticamente le generali caratteristiche ambientali di ogni istituto.

RISULTATI E CONCLUSIONI

In generale, la densità di popolazione rilevata è risultata essere correlata con l'indice di vocazionalità presentato dalle singole zone: le Zone di Ripopolamento e Cattura che hanno presentato densità più alte hanno mostrato anche indici di vocazionalità elevati. Un esempio di correlazione tra indice di vocazionalità e densità di popolazione di lepre è presentato nella figura 1.

Figura 1 - Correlazione tra indice di vocazionalità e le densità delle popolazioni della lepri rilevate nelle Zone di ripopolamento e Cattura della Val di Cecina nel 1992.

Densità lepri per
100 ha



* = Punteggio medio rilevato nella provincia

Indice di vocazionalità

ZRC Area della Comunità Montana della Val di Cecina

- | | |
|----------------------------|---------------------------------|
| 1- Larderello-Montecerboli | 8- Sasso Pisano |
| 2- Casa all'Olmo | 9- Badia e Aiale |
| 3- Ser Ripoli | 10- Montecastelli - La Paganina |
| 4- S. Dalmazio | 11- Casaglia |
| 5- Bacini del Sale | 12- Querceto |
| 6- Vicarello V.Magna | 13- Montescudaio |
| 7- Castelnuovo V.C. | 14- Rio Arbiaia |

E' interessante rilevare come in alcune zone ad un elevato grado di vocazione ambientale corrisponde una bassa densità di popolazione. L'esistenza di situazioni come queste può essere correlata a diverse cause quali: una forte presenza di predatori, la presenza di antagonisti alimentari, un forte prelievo venatorio o di bracconaggio e la presenza di patologie infettive ed infestive.

La prosecuzione di queste indagini potrà consentire di valutare l'importanza di questi diversi fattori sulla dinamica di popolazione nelle diverse aree di studio.

In quest'ottica, l'impiego delle metodiche di censimento non solo può migliorare le operazioni di gestione del patrimonio faunistico, ma consentire un continuo monitoraggio delle popolazioni di selvatici. Questo per individuare tempestivamente situazioni di declino delle popolazioni presenti, non direttamente imputabili ad una scadente qualità dell'habitat e quindi potenzialmente riconducibili anche ad eventi patologici.

RIASSUNTO

Per una razionale gestione del patrimonio faunistico è necessario attuare metodiche di censimento, dirette o indirette, allo scopo di rilevare la densità, la produttività e la dinamica delle popolazioni di selvatici. Per lo studio delle popolazioni di lepre presenti nella provincia di Pisa è stato utilizzato il metodo del censimento notturno che meglio si adatta alle caratteristiche ambientali del territorio in esame e al comportamento della specie. Parallelamente è stata attuata un'analisi dell'idoneità ambientale delle aree di studio. Le indagini hanno permesso di rilevare, in generale, una buona correlazione tra idoneità ambientale e densità di popolazione. L'impiego dei censimenti associato ad un'attenta analisi delle caratteristiche ambientali e dei fattori che possono influenzare la dinamica di popolazione di una comunità di selvatici, può consentire una corretta gestione delle popolazioni di lepri.

SUMMARY

The necessity of a rational management of the fauna induce to improve direct and indirect census methods to study wild populations. Hare populations were censused using a spot-light method, in protected areas of the Pisa district, in 1992-93. The land qualities of these areas were also analysed. The results showed a positive correlation between habitat qualities of sampled areas and hare populations density. Census methods and a correct evaluation of habitat requirements are important to study the factors influencing brown hare populations.

BIBLIOGRAFIA

- 1) **Barnes R.F.W. e Tapper S.C.**, 1985 - A method for counting hares by spotlight. *Journal Zool.* 206: 273-276.
- 2) **Ferri M.**, 1988 - Correlazione tra l'abbondanza di lepri e l'assetto agricolo nel modenese dal 1950 al 1986. In: Spagnesi M. e S. Toso (red.), *Atti I Conv. Nazionale Biologi della Selvaggina*, Suppl. Ric. Biol. Selvaggina, XIV: 619.
- 3) **Frylestam B.**, 1981 - Estimating by spotlight the population density of the European hare. *Acta Ther.*, 26: 419-427.
- 4) **Mattioli L., P. Pedone, N. Siemoni e V. Mazzarone** . Gli istituti faunistici e le aree vincolate. In *Aggiornamento del piano faunistico di Arezzo*. Vol. III, Ed. da D.R.E.A.M. Italia, s.c.r.l., 1991.
- 5) **Meriggi A.**, 1989 - Analisi critica di alcuni metodi di censimento della fauna selvatica (Aves, Mammalia). *Aspetti teorici e applicativi*. Ric. Biol. Selvaggina, 83, 59 pp.

- 6) **Poli A., M. Verdone e V. Trocchi.** Le tecniche di censimento nello studio delle popolazioni di lepre europea (*Lepus europaeus* Pallas, 1778). Ann. Fac. Med. Vet. di Pisa 1989, 42: 145-157.
- 7) **Verdone M., Terracciano G., Trocchi V. e Poli A.**, 1991 - Dinamica di popolazioni di lepre (*Lepus europaeus* Pallas), prevalenza ed intensità delle parassitosi. In Fasola M. (red.), Atti II Sem. Italiano. Censimenti. Faunistici. dei Vertebrati, Suppl. Ric. Biol. Selvaggina, XVI: 637.

PATOLOGIA DEL CINGHIALE (*Sus scrofa*) NELL'ENTROTERRA LIGURE (1989-1993)

M. CARAMELLI^o, W. MIGNONE^o, E. BOZZETTA^{oo},
E. SCANZIANI*, M. CASTAGNARO**, B. BIOLATTI**.

^oIstituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, TORINO

^{oo}Borsista presso Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta;

*Istituto di Anatomia Patologica Veterinaria e Patologia Aviaria, Facoltà di Medicina Veterinaria-
MILANO;

**Dipartimento di Patologia Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria- TORINO.

INTRODUZIONE

Nel 1988 erano presenti in Italia circa un milione e mezzo di cinghiali selvatici, ai quali andava aggiunto un numero non precisabile di animali allevati allo stato semibrado (1).

Si è quindi verificata in Italia un'esplosione demografica di questa specie, soprattutto tenendo conto della rarità con cui compariva ancora trent'anni fa in certe zone, tra le quali la Liguria, sede della nostra indagine, dove adesso invece vengono abbattuti ogni anno 6000 cinghiali (2).

Questa situazione comporta un'accentuazione di diverse problematiche di ordine igienico-sanitario connesse innanzitutto con il consumo della carne, che spesso viene consumata direttamente, sfuggendo alla visita del veterinario ispettore; a questi aspetti si aggiungono quelli legati al rischio del contatto diretto e indiretto con l'uomo e con gli altri animali. Sulla scorta di tali considerazioni, riportiamo sinteticamente i risultati di un'indagine svolta sulla popolazione di cinghiali nella provincia di Imperia nel periodo compreso tra il 1989 e il 1993.

MATERIALI E METODI

I campioni (animali interi od apparati o singoli organi) provenivano da cinghiali abbattuti durante le stagioni di caccia, oppure raccolti sul territorio in seguito a ritrovamento casuale dei cadaveri. L'età variava tra i tre mesi e i quattro anni di età.

Su tutti i campioni sono state applicate le consuete metodiche per l'indagine microbiologica, istologica e immunoistologica. Sono stati eseguiti esami culturali

su Columbia Blood agar al 5% di globuli rossi di montone, nonchè esami colturali specifici per l'isolamento di *Mycobacterium* sp. secondo il protocollo proposto da Lennette et al. (3) e per l'isolamento di *Rhodococcus equi* in Nanat medium secondo Prescott (4). Le prove biologiche per *Mycobacterium* sp. sono state eseguite secondo Gillespie e Timoney (5). Su sezioni di tessuto sospetto di lesioni di tubercolosi sono stati applicati due anticorpi policlonali diretti contro *M. bovis* (Agen, Acacia Ridge) e *M. tuberculosis* (Chemicon, Temecula, USA) secondo quanto descritto da Biolatti et al. (6). L'indagine immunoistochimica per l'evidenziazione dell'antigene riferibile a *Leptospira interrogans* è stata condotta secondo la metodica precedentemente descritta da Scanziani et al. (7)

Su 7282 campioni di lingua e diaframma è stato inoltre eseguito l'esame trichinoscopico, secondo un'ordinanza della Regione Liguria (O.R. n°1161 del 31.10.1988).

RISULTATI

Riportiamo nella tabella n° 1 i risultati ottenuti in questa indagine prendendo in considerazione le diverse patologie che si sono presentate nel corso della ricerca.

Tab. n° 1: Distribuzione delle lesioni nella popolazione di cinghiali esaminati nel periodo 1989 - 1993.

Lesione	N° sogg. esaminati	N- sogg. positivi.	%
Tubercolosi	395	17	4,3
Trichinellosi	7282	1	0,01
Cisticercosi	172	5	2,9
Strongilosi polmonare	86	23	36,9
Idatidosi	172	1	0,4
Rogna sarcoptica	172	4	2,3
Nefriti interstiziali	248	49	19,7
Idrometra	62	2	3,2
Cisti sierosa	62	1	1,6
Gastroenteriti	172	43	25,0
Broncopolmoniti	172	25	14,5
Traumi	25	16	64,0

TUBERCOLOSI

Su 395 soggetti esaminati, 17 (4,3 %) presentavano tipiche lesioni tubercolari, caratterizzate da noduli multipli, di aspetto sclero-caseo-calcifico e dalle dimensioni variabili tra i 2-3 mm e i 4-5 cm, localizzati in tutti i casi nei linfonodi sottomandibolari e retrofaringei.

Nella maggior parte di essi inoltre si evidenziavano lesioni in altre sedi, e precisamente: in 9 casi era colpito il polmone e i linfonodi mediastinici, con noduli distribuiti sia in profondità nel parenchima sia in evidenza al di sotto della pleura; in 4 casi le lesioni erano osservabili anche a livello del fegato e dei linfonodi periportal; in 2 i noduli tipici erano apprezzabili a livello dell'articolazione del carpo e dei tessuti periarticolari; infine in tre casi rispettivamente le lesioni si presentavano a livello della milza, dei linfonodi inguinali e di quelli prescapolari.

L'aspetto istologico delle lesioni era caratterizzato dalla presenza di noduli multipli contraddistinti da una necrosi centrale caseosa, spesso con segni di calcificazione, circondata da cellule epitelioidi, cellule giganti e, più esternamente, da tessuto connettivo di reazione. La colorazione immunohistochemica per *Mycobacterium bovis* e per *Mycobacterium tuberculosis* ha evidenziato numerosi focolai positivi nel citoplasma delle cellule epitelioidi e giganti, nonché nelle aree di necrosi caseosa. La prova biologica ha permesso di riconoscere sei soggetti positivi per *M. bovis* e quattro per *M. tuberculosis*, mentre mediante gli esami colturali specifici si sono isolati, in sei casi, numerosi bacilli alcool-acido resistenti che per caratteristiche quali la velocità di crescita, la temperatura di crescita e la produzione di pigmento sono riferibili al *Mycobacterium tuberculosis* complex (8).

Un accenno a parte va riservato a quelle che sono state definite lesioni "similtubercolari", riscontrate in 55 animali (13,9%): questi quadri patologici erano presenti unicamente a livello linfonodale, ed apparivano caratterizzati da necrosi centrale e calcificazione; in esse il materiale necrotico centrale si enucleava con estrema facilità dal tessuto connettivo circostante. L'immagine istologica era rappresentata da un centro necrotico circondato da una sottile capsula connettivale, in assenza costante di reazione infiammatoria; non si sono osservate cellule epitelioidi e/o giganti. Non si è evidenziato alcun agente patogeno dalle colture aerobiche ed anaerobiche, nè si è giunti all'isolamento di *Rhodococcus equi*, agente batterico possibile responsabile di lesioni analoghe nel suino (4). Per queste lesioni non è stato quindi possibile evidenziare alcun agente eziologico.

MALATTIE PARASSITARIE

Nell'ambito dell'indagine sulla Trichinellosi sono stati esaminati campioni di lingua e di diaframma appartenenti a 7282 cinghiali. In un soggetto adulto, maschio, (equivalente allo 0,01%) è stata riscontrata nel diaframma la presenza di *Tr. britovi*, senza che si apprezzassero lesioni visibili macroscopicamente. La carica parassitaria risultava pari a 120 larve per grammo.

Per quanto riguarda le forme parassitarie a livello dell'apparato respiratorio, sono stati esaminati 233 polmoni, 86 dei quali (36,9%) presentavano una broncopolmonite parassitaria da metastrongili. Si apprezzavano diverse lesioni a localizzazione parassitaria, dalle dimensioni di un grano di riso, a livello subpleurico, nonché numerosi parassiti adulti nei bronchi e nei bronchioli, con marcata reazione linfoide di tipo follicolare peribronchiale. Su 172 animali esaminati, in 5 (2,9%) si è riscontrata la presenza di *Cisticercus tenuicollis* a livello della sierosa epatica, caratterizzata dal tipico aspetto cistico, di 2-3 cm di diametro, contenente un fluido chiaro nel quale era visibile il protoscolice parassitario. Si è osservato un solo caso di idatidosi (0,4%), con il riscontro di numerose cisti sterili, delle dimensioni di 2 a 5 cm, distribuite nel polmone.

Quattro animali presentavano a livello della testa, del collo e della schiena, ampie aree cutanee, caratterizzate da alopecia associata ad ipercheratosi, croste ed emorragie, per le quali l'esame microscopico ha permesso di evidenziare la presenza di acari del genere *Sarcoptes*.

PATOLOGIA RENALE

Nel nostro studio una particolare attenzione è stata posta alla patologia renale, ai fini soprattutto di evidenziare eventuali lesioni attribuibili alla Leptospirosi.

Sono stati raccolti reni appartenenti a 248 cinghiali; lesioni macroscopiche sono state riscontrate in 36 animali, pari al 14,5%. Sei soggetti presentavano urolitiasi pelvica con aspetti di iperemia e flogosi catarrale di media entità. In trenta animali si potevano apprezzare sulla superficie renale lesioni nodulari minime, biancastre, di 1-2 mm di diametro. Tali reperti, nonché alcuni campioni che all'esame macroscopico apparivano del tutto normali, corrispondevano a quadri di nefrite interstiziale subacuta e cronica, per un totale di 49 casi, con una percentuale sul totale degli organi esaminati del 19,7%. L'aspetto istologico delle lesioni era caratterizzato essenzialmente da focolai infiltrativi e/o proliferativi, perlopiù periarteriolari, costituiti da linfociti, istiociti e plasmacellule, con aspetti regressivi degli epitelii tubulari circostanti.

Tutti i reperti sui quali sono stati condotti esami immunoistochimici con anticorpo anti *Leptospira interrogans* sono risultati costantemente negativi.

PATOLOGIA DELL'APPARATO GENITALE

Sono stati esaminati 62 apparati genitali femminili; due uteri (3,2%) presentavano idrometra, con raccolta di liquido acquoso nel lume e assottigliamento della parete uterina; mentre in un utero (1,6%) si è osservata la presenza di una cisti sottosierosa, di probabile natura congenita, localizzata alla confluenza delle corna, caratterizzata da una parete sottile e trasparente contenente liquido chiaro.

ALTRE LESIONI

Si sono apprezzate inoltre in 43 e 25 animali rispettivamente lesioni imputabili a *gastroenteriti* e *broncopolmoniti* non specifiche (25% e 14,5%), con quadri del tutto sovrapponibili a quelli osservati nei suini domestici; nonché in 16 casi (64,5% degli animali rinvenuti morti) si sono registrate *lesioni traumatiche* quali conseguenze verosimilmente da investimenti automobilistici e cadute nei precipizi.

CONCLUSIONI

Questa indagine mette in evidenza la presenza di numerose patologie, incluse alcune relative a importanti zoonosi, che colpiscono i cinghiali dell'area dell'entroterra ligure. In modo particolare alcuni agenti infettivi e parassitari, quali i micobatteri e la *Trichinella*, possono rappresentare un rischio non trascurabile per i consumatori della carne di cinghiale che sappiamo, in pratica, non essere soggetta ad accurati controlli prima del consumo.

Per quanto riguarda le lesioni renali, il frequente reperto di limitati infiltrati rotondocellulari, a sede perivasale e che non condizionano un grave danno delle strutture nefronali vicine, frequentemente riscontrabili in reni macroscopicamente normali, suggerisce un significato non necessariamente patologico di tale reperto; tali modici aspetti non sono infatti correlabili ad infezioni da *Leptospire* (7). Sulla base dei risultati ottenuti, anche dal punto di vista della diagnosi immunoistochimica, condotta con anticorpo anti-*pomona*, ma che va considerato negativa anche per le altre sierovarianti vista la ampia cross reattività del siero, si può ritenere che l'infezione da *Leptospira* non sia molto diffusa nei cinghiali liguri, in contrasto con quanto alcuni risultati sierologici in Sardegna potrebbero indicare (9). E' probabile che la concentrazione degli animali nelle condizioni di allevamento intensivo giochi un ruolo determinante nei riguardi della disseminazione della malattia; in questo senso il cinghiale delle Alpi Liguri è sicuramente meno esposto.

BIBLIOGRAFIA

- 1) **Mignone W., Giaccone V., Decastelli L.** (1990): Controllo microbiologico delle carni di cinghiali abbattuti nella stagione venatoria 1988 in Piemonte e Liguria (Italia). *Microbiol.Aliments.Nutrit.*8,149-155.
- 2) **Ferrari A., Biolatti B., Poggi M., Ercolini C., Mignone W.** (1992): A survey of wild boars disease in Liguria hinterland (Italy). *Proceedings Intern. Pig Vet. Soc., The Hague, Aug 17-20 1992.*
- 3) **Lennette E.H., Balows A., Hausler W.J. Jr., Truant J.P.** (1980): *Manual of Clinical Microbiology.* Washington, American Society for Microbiology, 3rd Ed.
- 4) **Prescott J.F.** (1991): *Rhodococcus equi*: an animal and human pathogen. *Clin. Microbiol. Rev.*,4,20-34.
- 5) **Gillespie J.H., Timoney J.F.** (1984): in *Malattie infettive degli animali domestici*, di Hagan & Bruner, Ed.Grasso, Bologna, 239-272.
- 6) **Biolatti B., Bollo E., Mignone W., Caramelli M., Schröder C.** (1992): Tuberculosis in wild boar (*Sus scrofa*) in Liguria (Italy). *Verh.ber. Erkrgr.Zootiere*, 34,55-59.
- 7) **Scanziani E., Luini M., Fabbì M., Pizzocaro P.** (1991): Comparison between specific immunoperoxidase staining and bacteriological culture in the diagnosis of renal leptospirosis of pig. *Res.in Vet.Sc.*50,229-232.
- 8) **Baron E.J., Finegold S.M.** (1990): *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology* 8th ed. Mosby Company St. Louis, Missouri, USA, 597-640.
- 9) **Ponti N., Addis G., Mele P., Maniga A., Scarano C.** (1991): Diffusione della Leptospirosi in Sardegna: indagine sierologica su cinghiali cacciati negli anni 87-90. *Atti S.I.S.Vet.* XI.V,897-901.

SU UN RARO REPERTO DI MESOTELIOMA IN UN CINGHIALE

SANNA E.*, PIRINO S.*, LIGIOS C.**, CHESSA G.***

* Istituto di Patologia Generale e Anatomia Patologica Veterinaria
Facoltà di Medicina Veterinaria - SASSARI

** Istituto Zooprofilattico Sperimentale "G.Pegreff", SASSARI

*** U.S.L. n. 7 - NUORO

INTRODUZIONE

Il mesotelioma, neoplasia pleurica o addominale di variegata morfologia, è stato segnalato a più riprese nel cane e descritto anche nel cavallo, nel bovino e, sporadicamente, nel maiale domestico.

La specie più colpita, in termini di prevalenza, è l'uomo, nel quale il mesotelioma compare in forme che, a seconda dell'istogenesi, vengono definite epiteliali, fibrose o miste. Le prime sono senza dubbio le più pericolose e presentano generalmente aspetto di cotenne con formazioni papillari e, assai più raramente, di cavità cistiformi. In qualche caso, la somiglianza degli elementi cellulari costitutivi con quelli di altri tumori (carcinomi) impone diagnostici differenziali basati sulla dimostrazione della produzione di acido ialuronico da parte degli elementi neoplastici.

Nel cane e negli altri animali la forma predominante è quella solido-papillare, sebbene talvolta si possano osservare anche aspetti diversi, inclusi quelli cistici.

Per quanto riguarda l'eziologia, l'asbesto di origine industriale sembra giocare un ruolo di primo piano sia nelle neoplasie pleuriche che in quelle peritoneali; si ammette che fino al 10% delle maestranze di stabilimenti ove si produce o si lavora l'amianto contraggano, con periodi di latenza più o meno lunghi, mesoteliomi di tipo epiteliale. Inoltre, Harbison e Godleski hanno trovato, in cani affetti da mesoteliomi toracici, "corpi ferruginosi" contenenti asbesto in percentuale significativamente più elevata rispetto ad animali controllo.

Sulla base della bibliografia consultata, la neoplasia risultava del tutto sconosciuta negli animali selvatici; abbiamo pertanto ritenuto interessante descrivere, in questa nota, un caso di mesotelioma addominale osservato su un cinghiale sardo vissuto allo stato selvatico.

OSSERVAZIONI E DISCUSSIONE

Il caso ha interessato una cinghialedda di 2 anni di età e di circa 20 kg di p.c., abbattuta nella provincia di Nuoro nel corso della attuale stagione venatoria. All'esame necroscopico, l'animale appariva in condizioni cachettiche; l'omento e le sierose viscerali si mostravano tempestate da numerosissime formazioni cistiche traslucide di diametro compreso fra pochi millimetri e 1-2 centimetri. Esse ricoprivano diaframma, fegato, milza, stomaco, intestino e utero senza peraltro provocare aderenze. Al loro interno era presente un liquido contenente talora materiale sabbioso che, all'osservazione microscopica, risultava costituito da cellule ad ampio citoplasma, più o meno intensamente aggregate. A carico degli organi della cavità toracica non si osservavano invece alterazioni macroscopicamente apprezzabili.

Campioni di tessuto neoplastico a localizzazione peri-diaframmatica, epatica, splenica, gastrica, intestinale e uterina, con porzioni dei relativi sottostanti organi, venivano fissati in formalina tamponata al 10%, inclusi in paraffina, sezionati a 5 μ m e colorati con Ematossilina-Eosina, PAS e Alcian, direttamente o previo trattamento con ialuronidasi. Allo scopo di verificare la presenza di eventuali "corpi ferruginosi", analoghi prelievi venivano digeriti in ipoclorito di sodio al 5%, filtrati su Millipore 0,4, chiarificati in xilolo, montati e osservati a contrasto interferenziale.

Dal punto di vista microscopico, sulle sierose, si apprezzavano lunghi monostrati con caratteristiche epiteliali ad ampio citoplasma e stratificazioni di tessuto "adenomatoso" sorretto da esili impalcature stromali. A forte ingrandimento, le cellule mostravano nucleo voluminoso con nucleoli multipli, citoplasma acidofilo e un cospicuo orletto "a spazzola" Alcian+; quest'ultima caratteristica scompariva in seguito a pre-trattamento con ialuronidasi.

L'accrescimento esofitico determinava spesso la formazione di cisti contenenti materiale Alcian +, delimitate da uno o due strati di cellule appiattite su una sottostante sottile lamina connettivale. Nella compagine neoplastica si repertavano anche strutture simil-granulomatose contenenti stampi cristallini di verosimile natura colesterinica.

Gli elementi neoplastici davano luogo a fenomeni infiltrativi solo a carico del diaframma, il cui tessuto, localmente, manifestava alterazioni degenerative e rare emorragie. Sempre in sede diaframmatica veniva notata la presenza di modici contingenti infiammatori.

Il sedimento ottenuto previa digestione e filtrazione risultava negativo per corpi ferruginosi così come descritti da Harbison e Godleski; venivano tuttavia osservati "spicula" agghiformi e formazioni cristalloidi di oscuro significato.

La neoplasia descritta colpisce soprattutto per la sua notevole estensione: essa ha coinvolto le sierose di rivestimento di pressochè tutti i visceri addominali inducendo il drastico decadimento delle condizioni di nutrizione dell'animale. Dal punto di vista istologico, ha presentato caratteri di malignità piuttosto elevati, testimoniati, oltre che dal notevole volume complessivo, anche dal comportamento localmente invasivo.

Ma l'aspetto di forse maggiore interesse è costituito dalla specie ospite: seppure in assenza di certezze eziologiche, il reperto di mesotelioma in un cinghiale costituisce, di per sè, un'evenienza eccezionale, che induce a riflettere sull'estensione dei "fattori di rischio" anche a specie selvatiche.

Un'ultima considerazione attiene alle caratteristiche istologiche della neoplasia: esse presenterebbero peculiarità sovrapponibili a quelle osservate nell'uomo e ciò fornirebbe una ulteriore evidenza circa la bontà del modello sperimentale suino in oncologia comparata.

BIBLIOGRAFIA

- 1) **Dubielzig R.R.**: Sclerosing mesothelioma in five dogs *Journal of the American Animal Hospital Association*; 15, 6, 745-748, 1979.
- 2) **Harbison M.L., Godleski J.**: Malignant mesothelioma in urban dogs. *Veterinary Pathology*; 20, 5, 531-540, 1983
- 3) **Stockhofe-Zurwieden N., Stoher M., Pohlenz J.T.I.**: Morphological characterisation of bovine mesothelioma. *Schweizer Archiv fur Tierheilkunde*; 132, 8, 473-474, 1990.
- 4) **Trigo F.J., Morrison W.B., Breeze R.G.**: An ultrastructural study of canine mesothelioma. *Journal of Comparative Pathology*; 91, 4; 531-537, 1981.

SPIAGGIAMENTO DI CETACEI LUNGO LE COSTE PUGLIESI: RILIEVI ANATOMOISTOPATOLOGICI

Stranding of Cetaceans along the coasts of Puglia anatomo histopathological lesions

*ZIZZO N., *PERILLO A., *TRONCONE A., **ROSITANI L.

* Istituto di Anatomia Patologica Veterinaria

Facoltà di Medicina Veterinaria - BARI

** Laboratorio di Biologia Marina - BARI

INTRODUZIONE

Con la presente comunicazione riferiamo di una nostra esperienza maturata negli ultimi 6 anni, durante i quali abbiamo avuto occasione di poter esaminare 123 Cetacei spiaggiatisi lungo il litorale Pugliese (Mare Adriatico e Mare Ionio).

Abbiamo esaminato n° 28 *Tursiops truncatus*; n°93 *Stenella coauroalba*; n°2 *Grampus griseus*, di sesso maschile e femminile, giovani ed adulti.

Tutti i soggetti, esaminati da poche ore a qualche giorno (massimo 3-4) dopo lo spiaggiamento si presentavano in buono o in discreto stato di conservazione fatta qualche eccezione, dove cominciavano a comparire iniziali e limitati fatti putrefattivi; non abbiamo preso invece in considerazione i cetacei con fenomeni putrefattivi post-mortali diffusi o in uno stadio avanzato.

Precisiamo ancora che molto spesso le necroscopie sono state eseguite in condizioni di assoluta emergenza in luoghi di difficile accesso sulle spiagge oppure presso qualche pubblico macello o presso la sala anatomica dell'Istituto; comunque in massima parte sul luogo dello spiaggiamento che si cercava di raggiungere nel più breve tempo possibile; solo in rare occasioni l'esame necroscopico è stato differito oppure si è provveduto al congelamento del cetaceo per eseguire successivamente la necroscopia. Prima di procedere all'esame autoptico veniva redatta una scheda dove venivano riportati i dati segnaletici e morfometrici del cetaceo.

Nel corso dell'autopsia dopo attento esame anatomo-patologico si provvedeva immediatamente a prelevare dei pezzi di organi e fissarli in formalina salata al 10% per esami istopatologici.

Riferiamo degli aspetti di lesioni anatomo-istopatologiche riscontrate a carico

dei diversi apparati ed organi e le cui cause erano da attribuire a patologie varie. Si precisa ancora che sono stati fatti prelievi anche per esami chimico-tossicologici, mentre solo su pochi esemplari è stato possibile eseguire indagini virologiche o batteriologiche.

CUTE E SOTTOCUTE:

La pelle è liscia, levigata e priva di peli e ghiandole; è piuttosto spessa e strutturalmente evidenzia tre strati: l'esterno, lo spinoso e il germinativo.

La cute del delfino come quella dei mammiferi domestici, può essere esposta ad una serie di insulti di origine traumatica, fisicochimica, microbica e parassitaria. A parte le contusioni conseguenti allo spiaggiamento, sulla cute, abbiamo rilevato alterazioni riferibili ad impigliamento in reti di pescatori, a recisioni della coda e delle pinne (circa il 15% dei casi) e a ferite di arma da fuoco (n° 1 caso). Ancora altre soluzioni di continuo di varia origine e macchie eritematose-pustolose, alcune volte complicate dall'intervento di agenti batterici (piogeni) con conseguente interessamento anche delle strutture profonde e con formazione di nodi e noduli della grandezza massima di una arancia, molli o consistenti a contenuto purulento o di aspetto fibroso (fig. 1). Tali lesioni, presenti in genere su tutta la superficie corporea, interessavano spesso la regione dorsale o caudale. Non mancavano inoltre in alcuni soggetti aree di necrosi. Istologicamente nelle lesioni recenti numerosa risultava l'infiltrazione di cellule infiammatorie con prevalenza di neutrofili, accompagnata da congestione edema ed emorragia. La flogosi era superficiale oppure si estendeva nel tessuto sottocutaneo. In alcuni esemplari (12%) erano ben evidenziabili, sparsi su tutta la superficie cutanea delle formazioni circolari della grandezza massima di una lenticchia di colore scuro e non protudenti, molto probabilmente di origine virale (*Poxvirus*). Istologicamente le lesioni erano caratterizzate da una degenerazione vacuolare delle cellule dello strato intermedio (fig. 2) e dalla presenza di inclusi eosinofili intracitoplasmatici. Numerose infine sono state le infestazioni parassitarie (35% dei casi), isolate o diffuse, singole o associate. Abbiamo riscontrato allocate sia nella cute che nel sottocute *Pennella sp.*, *Phillobotrium delphini*, *Crassicauda sp.*

MUSCOLO

Rigor mortis sempre assente. Le masse muscolari normali di aspetto rosso bruno intenso, delle volte per la congestione apparivano imbibite, edematose e di colorito rosso scuro marcato, altre volte apparivano asciutte, opache, smorte, pallide e depigmentate. Non mancava qualche emorragia o qualche infiltrato emorragico con lacerazione delle fibre muscolari e dei vasi sanguigni.

Istologicamente si notava un semplice danneggiamento delle cellule o aspetti regressivo degenerativi più gravi con ialinizzazione e necrosi. La risposta infiammatoria oltre ad una essudazione sierosa comprendeva infiltrati di granulociti neutrofili (nei processi acuti), di granulociti eosinofili, di linfociti, di istiociti e monociti (nelle flogosi croniche) e presenza di proliferazione, a livello interstiziale, di fibroblasti e di tessuto connettivo fibroso.

Degni di rilievo anche le infestazioni parassitarie di *Monorigma grimaldii* e di *Crassicauda sp.*

CAVITÀ ADDOMINALE:

In alcuni cetacei abbiamo rinvenuto un anormale contenuto rappresentato o da trasudato o da sangue o da essudato in genere in modica quantità. Peritoniti sierose o siero-fibrinose per presenza di liquido citrino o giallastro con fiocchi di fibrina, oppure peritoniti siero-fibrino emorragiche per presenza in cavità di liquido rossastro frammisto a fibrina o ancora peritoniti croniche per presenza di fatti aderenziali sono state diagnosticate in circa il 30% dei cetacei. Non infrequenti sono state pure le localizzazioni parassitarie rappresentate da *M. grimaldii* e da *Anisakis sp.*, che determinava una intensa reattività con formazione di tessuto di granulazione sotto forma di grossi nodi aderenti alla parete gastrica.

APPARATO GASTRICO:

Consiste di un primo stomaco detto meccanico, di uno stomaco ghiandolare o chimico e di un terzo stomaco detto pilorico.

Lo stomaco meccanico, privo di ghiandole, è tappezzato da un epitelio pavimentoso ed ha una robusta parete muscolare ed è detto meccanico in quanto la sua azione principale è lo sminuzzamento del cibo. In alcuni esemplari era completamente privo di materiale alimentare, in altri conteneva alimenti vari di origine ittica; in un *G. griseus* erano ben immersi nella parete degli ami da palamiti (fig. 3) ed in uno stomaco di *S. coeruleoalba* è stato rinvenuto del materiale vario frammisto a catrame; non abbiamo mai riscontrato materiale di plastica come descritto da altri autori.

La flogosi acuta o cronica evidenziabile sia macroscopicamente che microscopicamente è stato un evento abbastanza costante, spesso associata o determinata dalla presenza limitata o massiva di *Anisakis sp.*

STOMACO GHIANDOLARE E PILORICO

Lo stomaco ghiandolare, con una mucosa sollevata in pieghe è ricchissimo di ghiandole gastriche, mentre lo stomaco pilorico, meno sviluppato del precedente, non ha pieghe ed è provvisto di ghiandole piloriche.

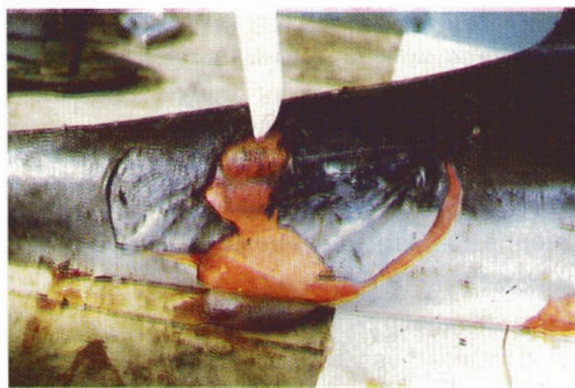


Fig. 1 - Cute: Desquamazione e nodulo ascessuale

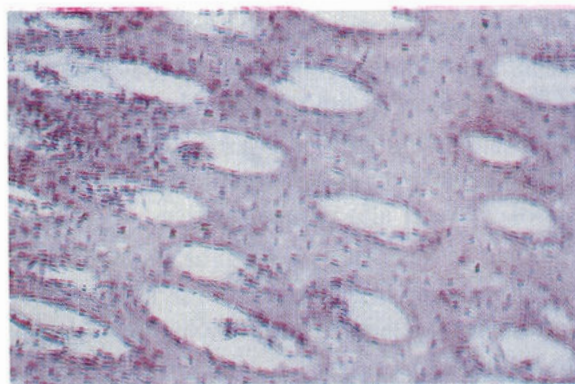


Fig. 2 - Cute: degenerazione vacuolare conseguente all'infezione virale. E. E. 25 X

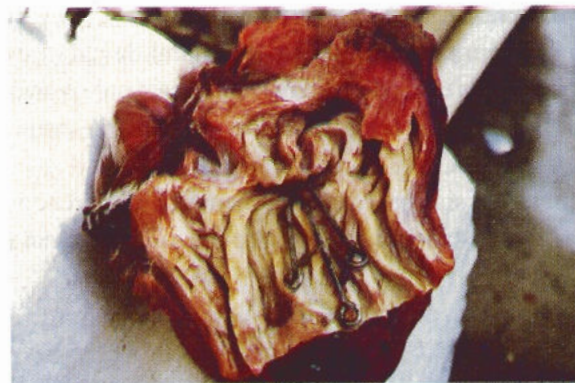


Fig. 3 - Stomaco meccanico: ami da paloniti.

Le lesioni riscontrate in ambedue gli stomaci in genere erano sovrapponibili ed erano caratterizzate da un più o meno intenso arrossamento della mucosa ed edema della sottomucosa o dalla presenza di screziature o erosioni emorragiche. Comunque l'alterazione più comunemente riscontrata è stata una gastrite acuta o cronica per presenza di essudato aderente, filante e tendente al giallastro. Istologicamente, nelle flogosi acute, oltre ad un'intensa iperemia si notavano alterazione e desquamazione epiteliale, essudazione sierosa leucocitaria specie nella sottomucosa, emorragie ed erosioni gastriche (fig. 4).

Nelle flogosi croniche, a parte l'ispessimento della parete per la proliferazione connettivale si aveva iperplasia o atrofia ghiandolare ed infiltrati linfocitari e plasmacellulari o anche infiltrati eosinofilici nella infestazione parassitaria da *Anisakis sp.* e da *Pholeter gastrophilus*.

MILZA

La milza di forma ovoidale è piuttosto piccola; all'esame anatomopatologico in molti soggetti risultava aumentata di volume da poco a molto per cui aspetti di congestione, di

iperplasia della polpa rossa o della polpa bianca, margini arrotondati emorragie capsulari, flogosi; in qualche esemplare poi, di volume diminuito, erano ben evidenti processi fibrotici.

L'esame microscopico metteva in evidenza depositi di emosiderina, fibrosi, iperplasia dei follicoli e delle strutture reticolo-endoteliali, oltre alla presenza di granulociti neutrofili o eosinofili, di macrofagi e di plasmacellule.

INTESTINO

E' piuttosto lungo e manca del cieco; in alcuni cetacei all'apertura della cavità addominale era possibile evidenziare una sierosa di colorito diffusamente rossastrocupo o rosso-bluastro più o meno intenso e vasi venosi diffusamente iniettati. All'apertura del tubo intestinale il lume poteva contenere un essudato siero-catarrale o solo catarrale che asportato lasciava trasparire una mucosa arrossata ed iperemica, oppure un essudato piuttosto fluido, torbido grigiastro, o ancora la presenza di soffiusioni emorragiche, o raramente un essudato fibrinoso; in qualche caso poi la mucosa si presentava opaca tumida e pastosa; spesso assieme all'essudato catarrale si notava una parete ispessita ed una mucosa piuttosto consistente e delle volte sollevata in pieghe. Da considerare pure il riscontro di localizzazioni parassitarie (*Diphillobotrium sp.*).

Istologicamente desquamazione epiteliale, appiattimento dei villi, edema della parete, qualche granulocita neutrofilo o eosinofilo e cellule istiocitarie, infiltrati emorragici, alterazione dei follicoli linfatici, fibrosi.

FEGATO

E' bilobato e manca della cistifellea. La suscettibilità del fegato al danno di sostanze tossiche o di agenti biologici è più o meno simile a quanto osservato nei mammiferi terrestri. Abbiamo evidenziato alterazioni epatiche riferibili a disturbi di circolo (fegato da stasi) caratterizzate da un fegato aumentato di volume, a capsula tesa, a margini arrotondati e di colorito rosso-cupo; al taglio defluiva sangue più o meno abbondante o anche in qualche caso un indurimento cianotico da stasi. Anche la degenerazione grassa isolata o associata ad altre manifestazioni patologiche, come ad esempio necrosi epatica e flogosi è stata frequentemente riscontrata.

Le lesioni infiammatorie erano sia di tipo acuto che di tipo cronico. Nel primo caso si avevano aspetti di fegato imbibito o edematoso e con rilievi istologici o di infiltrati di materiale plasmatico omogeneo, finemente granulare e poco eosinofilo o di infiltrati di leucociti mononucleati, di granulociti neutrofili di granulociti eosinofili (nella infestazioni parassitarie da *Campula rochebruni*) di

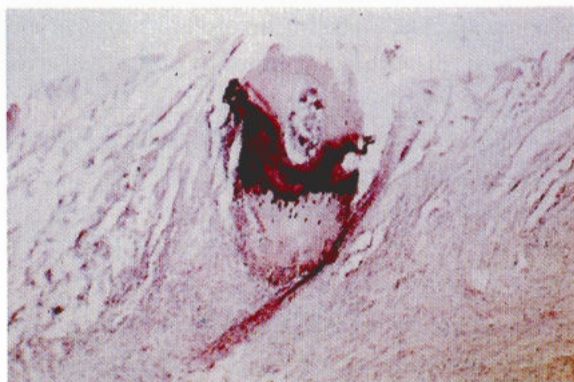


Fig. 4 - Stomaco pilorico: desquamazione epiteliale ed erosione della parete. E. E. 10X.

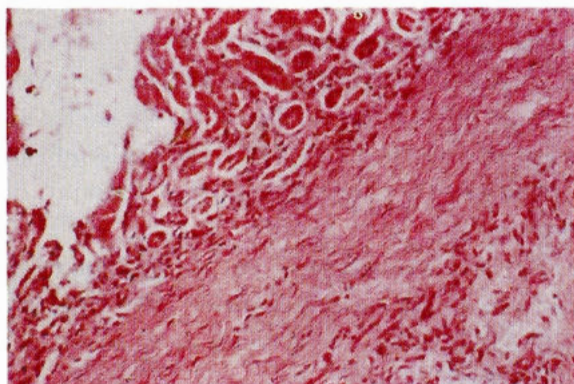


Fig. 5 - Rene: nefrite interstiziale E. E. 25 X

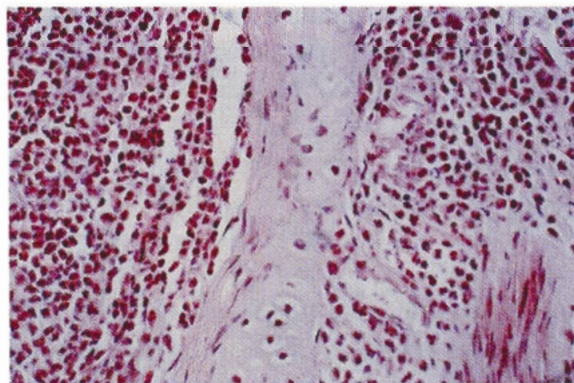


Fig. 6 - Bronchi: essudazione mucopurulenta E. E. 25X.

plasmacellule e di macrofagi; nel secondo caso si avevano aree limitate o estese di sclerosi con aspetti anche di tendenza a riduzione di volume dell'organo.

PANCREAS

Oltre alle localizzazioni (in 15 soggetti) di *C. rochebruni*, che determinava soprattutto una sclerosi periduttale, in due esemplari l'organo, aumentato di volume, congesto, evidenziava alcuni segni di pancreatite confermata istologicamente dall'iperemia infiammatoria, dall'imbibizione sierosa e dalla presenza di linfociti anche se non numerosi e dalla desquamazione epiteliale dei dotti.

RENE

Organo polilobato è formato da tante piccole unità, reniculi, ognuno con papilla e bacinetto proprio.

A carico del rene si sono osservate modificazioni sia all'esame macroscopico che microscopico con aspetti di congestione, di edema, di degenerazione e di flogosi, per cui reni aumentati di volume e di consistenza o di aspetto più torbido della norma. Molto spesso le alterazioni interessavano solo alcuni reniculi risparmiando completamente il resto del

parenchima, per cui aspetto variegato per presenza di renicoli pallidi, bianco-grigiastri con aree iperemiche o emorragiche e renicoli normali.

Le unità interessate potevano evidenziare la presenza di essudazione, di emorragie e di cellule infiammatorie quali linfociti, macrofagi, plasmacellule, compressione dei capillari, trombosi e alterazione delle cellule endoteliali e mesangiali. L'infiammazione era accompagnata in alcuni casi da processi regressivi necrotici a carico dei glomeruli e dei tubuli con aspetti di modificazioni (atrofia e ipertrofia) e necrosi tubulare. Altre volte assieme alla obliterazione ialina dei glomeruli si potevano osservare fatti proliferativi e fibrosi interstiziali (fig. 4).

CAVITÀ TORACICA

Come per la cavità addominale anche qui, ma in un minore numero di soggetti, abbiamo riscontrato presenza di versamenti sierosi sierofibrinosi o siero emorragici. In qualche soggetto i versamenti interessavano ambedue le cavità (toracica e addominale).

POLMONE

Le manifestazioni patologiche di più facile riscontro sono state congestione, edema, polmonite, pleuropolmoniti e parassitosi. In alcuni casi la congestione era evento legato allo spiaggiamento. In diversi soggetti si accompagnavano edema e congestione che poi risultava la causa del decesso del cetaceo che evidenziava abbondante liquido schiumoso sia nelle vie aeree superiori che in trachea e nei bronchi. Per quanto riguarda i processi infiammatori, in più soggetti per la presenza o di essudato e fibrina, o di lacinie fibrose, o di ispessimento della pleura assieme a focolai pneumonici o ad atelectasia o focolai limitati di consolidamento erano evidenziabili contemporaneamente flogosi sia pleuriche che polmonari. La polmonite fibrinosa sempre circoscritta era caratterizzata dalla presenza di piccole aree sparse sul parenchima allo stadio di epatizzazione rossa e grigia; altre volte la flogosi interessava i bronchi, che apparivano dilatati ed intasati di materiale catarrale, con essudazione catarrale, ed il parenchima polmonare circostante. L'esame istologico nel confermare quanto visto macroscopicamente per la presenza di granulociti neutrofili, di essudazione fibrinosa negli spazi alveolari e di masse quasi amorfe oppure di metaplasia, di fibrosi, di muco nei bronchi e nei bronchioli, evidenziava anche necrosi delle cellule epiteliali, congestione edema, emorragie, atelectasia, flogosi interstiziale, linfociti, istiociti ed anche plasmacellule. Diverse sono state pure le localizzazioni parassitarie rappresentate da *Skrjbinalus guevarai*, *Stenurus ovatus*, *Halocercus delphini* erano responsabili in vario modo o di flogosi bronchiali e polmonare (fig 6) o di enfisema o di lesioni pleuriche.

CUORE

Era interessato da diverse patologie che colpivano sia il pericardio (essudazione sierosa, siero-emorragica o siero-fibrinosa o fibrinosa) sia il miocardio che l'endocardio. Le lesioni miocardiche riscontrate in un alto numero di soggetti erano rappresentate da degenerazione, da presenza di emorragie, da endocarditi da miocardiosclerosi, da miocardite, per cui cuore di colorito pallido con aree grigiastre asciutte, edema interstiziale, reattività cellulare con presenza di linfociti e cellule macrofagiche o anche di granulociti e fibrosi.

CERVELLO

All'esame macroscopico abbiamo riscontrato congestione, dilatazione ed ectasia vasale, intensa iperemia, iniezione vasale, imbibizione ed edema. Tali aspetti sono stati confermati dall'esame istologico che ha evidenziato anche focolai di encefalomalacia, focolai flogistici per presenza di cellule giganti plurinucleate, di infiltrati linfoplasm e cellulari e di emorragie parenchimali in sede perivascolare, di pallore mielinico e di fenomeni di neuronofagia.

LINFONODI

In linea di massima i diversi processi infiammatori erano accompagnati da un più o meno intenso risentimento linfonodale il cui aspetto poteva variare dalla semplice essudazione e congestione, alla presenza di emorragie, di flogosi ed eventualmente sclerosi.

L'esame microscopico evidenziava seni corticali e linfatici dilatati per la presenza di sangue oppure intensa iperemia con ectasia e dilatazione vasale, proliferazione delle cellule reticoloendoteliali, o ancora iperplasia reattiva dei follicoli linfatici con accumulo di cellule reticolari di linfoblasti e di granulociti neutrofili o eosinofili.

CONCLUSIONE

La nostra indagine, riferentesi ad un numero statisticamente significativo, almeno per questa specie, ci permette di poter fare degli utili rilievi sulle alterazioni anatomo-istopatologiche dei cetacei determinate, secondo noi, da cause diverse: traumatiche, batteriche, virali, parassitarie ed ambientali, in accordo con altri Autori (Sweeney, 1975; Howard, 1983; Raga, 1991; Kennedy, 1991; Ailsa, 1991).

Sulla base dei dati ricavabili dai nostri accertamenti e rilievi di natura anatomo-istopatologica alcune risultanze meritano di essere adeguatamente sottolineate e precisamente: le lesioni traumatiche, batteriche, virali e parassitarie della pelle; le alterazioni degenerative delle masse muscolari e del miocardio, accompagnate

quest'ultime spesso da manifestazioni flogistiche; le sierositi e le gastroenteriti acute e croniche associate spesso a infestazioni parassitarie; le alterazioni degenerativo necrotiche ed infiammatorie del fegato e del rene; le alterazioni del parenchima polmonare spesso complicate dalla presenza di parassiti; la flogosi e la fibrosi pancreatici; la congestione, l'edema e la flogosi cerebrale.

Le cause di tali alterazioni sono diverse e molto probabilmente diversi fattori, come ammette anche Hall, entrano in gioco nella esplosione della malattia e nessuna delle condizioni è da considerarsi superflua. Le patologie da noi riscontrate non devono essere viste soltanto in riferimento ad agenti patogeni ma anche in riferimento all'ambiente ed all'ospite. Un'alterazione dell'equilibrio organico del cetaceo, determinato nell'ambiente marino da situazioni varie (inquinamento, temperatura, disturbi, stress, ecc.) può essere determinante nell'insorgenza della malattia. Riteniamo in conclusione che la conoscenza della "nicchia ecologica", specie per quanto riguarda l'habitat, il nutrimento, le relazioni del mammifero con l'ambiente e con gli altri esseri viventi, il rapporto con altri cetacci, potrebbe essere di utile aiuto per comprendere meglio le cause di malattia, dell'insorgenza di alcune patologie e dello spiaggiamento.

RIASSUNTO

Gli Autori dopo aver esaminato, negli ultimi 6 anni, n°123 cetacei spiaggiatisi lungo il litorale pugliese riferiscono delle lesioni anatomoistopatologiche riscontrate. Si soffermano a descrivere brevemente le principali alterazioni evidenziate a carico degli apparati o organi ed ipotizzano che le cause di morte dei cetacei sono da attribuire a diversi fattori: traumi, agenti patogeni (batterici, virali e parassitari), ambiente, ospite.

SUMMARY

The Authors after the inspections of n° 123 Cetaceans stranded on the coasts of Puglia, from 1988-1993, relate of the anatomohistopathologic lesions. They dwell upon describe briefly the principal alterations pointed out apparatus or organs and suppose that causes of death of Cetaceans are to ascribe to different factors: traumas, pathogenic agents (bacterium, virus, parassites), marine environment, host.

PAROLE CHIAVE: Cetacei, alterazioni anatomo-istopatologiche, trauma, agenti patogeni, ambiente

KEY-WORDS: Cetaceans, anatomo-histopathological alterations, trauma, pathogenic agents, marine environment.

BIBLIOGRAFIA

- 1) **Baker J.R.** The diseases and pathology of Wild small cetaceans from the the irish sea (1991) IX Annual simposium European Association for aquatic Mammals, Riccione.
- 2) **Bryden M.M., Harrison R.** (1986) - Reserch on Dolphins, Clarendon Press - Oxford.
- 3) **Brown W.R., Geraci J. R., Hicks B.D., Aubin D.J., WSchroeder J.P.** (1983) Epidermal cell proliferation in the bottlonose dolphin (*Tursiops truncatus*). Canadian Journal of Zoology, 61, 1587.
- 4) **Demaster D.P., Edwards E.F., Wade P., Jisson J.E.** (1992) - Status of dolphin stocks in the costeur tropical pacific. In wildlife 2001 poputations di Mc Cullough e Barret, Elsevifr eplied science lovai.
- 5) **Geraci J.R., Hicks B.D., Aubin D.J.,** (1979). Dolphin pox: a skin disease of cetaceans. Canadian Journal of Comparative Medicine, 43, 399.
- 6) **Geraci J.R., Aubi D.J.** (1987). Effects of parasites on marine mammals. International Journal for Parasitology, 17, 407.
- 7) **Hall A.J.** (1991), Disease causation and the Striped Dolphin Mortality. Proceeding of the Mediterranean striped dolphin mortality, Palma de Mallorca.
- 8) **Herman M.L.** (1988) Cetacean Behavior Mechanisms and Functions. R. E. Krieger Publishing Company, Florida.
- 9) **Howard E.B.** (1983) - Pathobiology of Marine Mammal disease. Volume I e II. CRC Press Florida.
- 10) **Kennedy S.** (1991) Morbillivirus infections in Marine Mammals. Proceeding of the Mediterranean striped dolphin mortality, Palma de Mallorca.

- 11) **Kennedy S., Smuth S.A., Cush P.F., Duignan P., Platten M., Mc Cullough J.J., Allan G.M.** (1989) - Histopatologic and immunocytochemical studies of distemper in seals. *Veterinary Pathology*, 26, 97.
- 12) **Murray E., Fowler D.U.M.** (1986) - Zoo e Wild animals medicine. W. B. Sander Company, Philadelphia.
- 13) **Raga J.A., J. Aznaz, J.A. Balbuena, Fernandez M.** (1991). Parasites and epizoots in striped dolphins affected by an epizootic in western mediterranean. Proceeding of the Mediterranean striped dolphin mortality, Palma de Mallorca.
- 14) **Raga J.A., Aguilar A.** (1991) Mass Mortality of Striped Dolphins in Spanish Mediterranean Water. Proceeding of the Mediterranean striped dolphin mortality, Palma de Mallorca.
- 15) **Sweeney J.C. and Ridgway S.H.**, (1975) -Common diseases of small cetaceans, *J. A. V. M. A.*, 167, 533.
- 16) **Thonsom C.A., Geraci J.R.** -Cortisol, alterance and leucocytes in the stress response of bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus* (1986). *Canadian Journal of Fisheries and aquatic science*, 43, 1010.
- 17) **Troncone A., Zizzo N., Iaffaldano D., Marcotrigiano G., Marano G. et al** : (1990) - Spiaggiamento di cetacei lungo le coste Pugliesi (1987-1988), Levante Editori-Bari.
- 18) **Ridgway S.H.** (1972). *Mammals of the sea, biology and medicine*. Harles Thomas-Illinois-Usa.
- 19) **Whitlow W.L., Jones L.** Acoustic replectivity of nets implications concerning incidental take of dolphins (1991). *Marine Mammal Science*, 7, 258.
- 20) **Woodard J.C., Zam S.G., Caldwell L.K., Caldwell M.C.** (1969). Some parasitic diseases of dolphins. *Pathol. Vet.* 6, 257.

CONTRIBUTO ALLO STUDIO DELLA NEUROPATOLOGIA DI CETACEI SPIAGGIATI SULLE COSTE ITALIANE

DI GUARDO G.*, CORRADI A.**, AGRIMI U.***, ZIZZO N.****,
MORELLI L.***, PERILLO A.***, CABASSI E.**, KENNEDY S.*****

* Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana-ROMA;

** Istituto di Anatomia Patologica Veterinaria
Facoltà di Medicina Veterinaria - PARMA;

*** Istituto Superiore di Sanità-Laboratorio di Medicina Veterinaria-ROMA;

**** Istituto di Anatomia Patologica Veterinaria
Facoltà di Medicina Veterinaria - BARI;

***** Department of Agriculture for Northern Ireland
Veterinary Sciences Division-BELFAST-IRLANDA DEL NORD.

INTRODUZIONE

L'interesse rivolto allo studio della neuropatologia dei mammiferi acquatici e, più in particolare, dei cetacei, pur essendo già documentato da numerosi contributi scientifici di Autori soprattutto americani, giapponesi ed europei (Ridgway e Johnston, 1965; Johnston e Ridgway, 1969; Martin *et alii*, 1970; Ridgway e Dailey, 1972; Hall *et alii*, 1977; Bryden e Harrison, 1986; Morimitsu *et alii*, 1986, 1987; Lewis e Berry, 1988), ha subito un ulteriore incremento a partire dal 1990, anno in cui è stata dimostrata la responsabilità di un morbillivirus ("dolphin morbillivirus", o DMV) quale agente eziologico primario della grave moria che, nella seconda metà di quell'anno, aveva interessato centinaia di stenelle (*S.coeruleoalba*) lungo le coste spagnole (Domingo *et alii*, 1990). Il morbillivirus in questione (DMV) è stato isolato per la prima volta dopo che analoghi agenti virali, denominati rispettivamente "phocid (phocine) distemper virus-1" (PDV-1), "phocid (phocine) distemper virus-2" (PDV-2) e "porpoise morbillivirus" (PMV), erano stati identificati in pinnipedi (*Phoca vitulina*, *Phoca siberica*) (Kennedy *et alii*, 1988 a; Osterhaus e Vedder, 1988; Grachev *et alii*, 1989; Osterhaus *et alii*, 1989) ed in cetacei (*Phocoena phocoena*) (Kennedy *et alii*, 1988 b).

In analogia con i reperti anatomo-istopatologici descritti nella foca (*P.vitulina*) (Kennedy *et alii*, 1989) e nella focena (*P.phocoena*) (Kennedy *et alii*, 1991), le lesioni di più comune riscontro nella stenella (*S.coeruleoalba*) erano rappresentate da polmonite ed encefalite (Domingo *et alii*, 1992). Anche in Italia, parallelamente alla segnalazione di casi di infezione morbillivirale in stenelle rinvenute

spiaggiati sulle coste della nostra Penisola a partire dalla seconda metà del 1991 (Buonavoglia *et alii*, 1992; Di Guardo *et alii*, 1992 a; Kennedy *et alii*, 1993), si è registrato un accresciuto interesse nei confronti dello studio della neuropatologia dei cetacei, come documentato dai lavori recentemente pubblicati in materia (Di Guardo *et alii*, 1992 b; Di Guardo *et alii*, 1992 c; Guarda *et alii*, 1992; Agrimi *et alii*, 1993).

Scopo della presente nota è appunto quello di fornire un ulteriore contributo alla conoscenza della neuropatologia di questi animali, attraverso l'esame di un cospicuo numero di soggetti, appartenenti a diverse specie, rinvenuti spiaggiati sulle coste italiane fra il 1991 ed il 1993.

MATERIALI E METODI

Il materiale oggetto di studio è stato rappresentato da 37 cetacei, spiaggiati nel triennio 1991-1993 sulle coste laziali (8 soggetti), toscane (8 soggetti) e pugliesi (21 soggetti, tutti spiaggiati nel 1991), appartenenti a 4 specie diverse:

- 1) *Stenella coeruleoalba* (31 soggetti);
- 2) *Tursiops truncatus* (4 soggetti);
- 3) *Balaenoptera physalus* (1 soggetto);
- 4) *Balaenoptera acutorostrata* (1 soggetto).

Da ciascuno dei suddetti animali si è proceduto, durante l'esame *post-mortem*, al prelievo ed alla successiva fissazione, in formalina neutra al 10%, dell'encefalo *in toto* o di porzioni di questo. Una volta raggiunto un livello di fissazione ottimale, dai tessuti in esame sono state effettuate una serie di sezioni coronali in maniera tale da raggiungere, quando possibile, un campionamento sufficientemente rappresentativo. I blocchetti di tessuto così ottenuti sono stati inclusi in paraffina e quindi sezionati ad uno spessore di 5 micron. Le sezioni istologiche sono state colorate con ematossilina-eosina, Luxol-fast blue, PAS con e senza diastasi, e con il metodo Giemsa. Inoltre, sezioni seriate di tessuto nervoso (cervello e cervelletto) di ciascun animale sono state cimentate, utilizzando una tecnica di ABC-perossidasi (Kennedy *et alii*, 1991), con opportune diluizioni di anticorpi monoclonali diretti nei confronti degli antigeni P (fosfoproteico) e H (emoagglutinina di superficie) del virus PDV-1. La stessa metodica è stata affiancata dall'impiego di anticorpi monoclonali e policlonali nei confronti dei 2 herpesvirus della rinotracheite infettiva del bovino e della malattia di Aujeszky del suino (Kennedy *et alii*, 1992), al fine di definire l'eziologia di un precedente caso di encefalite virale diagnosticato in una stenella rinvenuta spiaggiata sulle coste

laziali nel 1993. Infine, sezioni di corteccia cerebrale e cerebellare di numerosi soggetti sono state cimentate, con una metodica ABC-immunoperossidasi, con anticorpi nei confronti della proteina fibrillare acida gliale (GFAP) e della proteina basica mielinica (MBP).

RISULTATI

Le principali lesioni neurologiche osservate, singolarmente o in associazione, nei cetacei da noi esaminati durante il periodo d'indagine, sono elencate nella tabella n.1. In proposito, vi è da rilevare la quasi totale assenza di reperti

Tabella 1: Principali alterazioni neurologiche riscontrate, singolarmente o in associazione, in 37 cetacei rinvenuti spiaggiati sulle coste italiane (periodo d'indagine: 1991 - 1993).

Disturbi Circolatori	Emorragie	Encefalomalacia	Degenerazione walleriana	Demielinizzazione	Meningite
3 (8,1%)	10 (27%)	21 (56,7%)	3 (8,1%)	3 (8,1%)	2 (5,4%)

Encefalite	Encefalite virale	Encefalite morbillivirale	Emboli batterici	Toxoplasmosi	Parassiti
12 (32,4%)	9 (24,3%)	6 (16,2%)	1 (2,7%)	8 (21,6%)	1 (2,7%)

macroscopici a fronte, invece, di un frequente riscontro di modificazioni istopatologiche.

Lesioni di comune riscontro sono risultate l'encefalomalacia e le emorragie, osservate rispettivamente nel 56,7% e nel 27% dei soggetti esaminati e frequentemente localizzate, entrambe, a livello della sostanza bianca cerebrale e/o cerebellare. In una stenella, gli stravasi ematici presenti a tale livello circondavano pareti vasali apparentemente integre. Di comune osservazione è stato poi il reperto congiunto di leucoencefalomalacia e di emorragie cerebrali e/o cerebellari. Tali lesioni, singolarmente, o in associazione tra loro, o con più o meno estesi focolai di demielinizzazione in sede cerebrale o cerebellare, accompagnavano spesso il

quadro patologico delle encefaliti, soprattutto di quelle ad eziologia virale o sospetta tale. Vistose emorragie meningee e submeningee sono state pure apprezzate, in concomitanza con un reperto di localizzazione cerebrale di parassiti ascrivibili al genere *Nasitrema*, in una delle stenelle rinvenute spiaggiate sulle coste pugliesi.

In nessuna delle sezioni esaminate si sono potute osservare configurazioni flogistiche con carattere di acuzie, mentre in tutti i soggetti si è rinvenuta una reazione di perivasculite a stadio subacuto o subcronico.

Le lesioni hanno interessato sia la sostanza grigia che la bianca con varia intensità flogistica, rappresentata da microgliosi per lo più circoscritta, da infiltrazione linfoplasmacellulare perivascolare diffusa nel parenchima, e da alterazione regressiva delle cellule nervose con riscontri di neuronofagia. In alcuni campioni si sono potuti osservare quadri di pallore nel bianco cerebrale. Da sottolineare poi che, in una stenella spiaggata sulle coste pugliesi negativa per Morbillivirus, nella sostanza bianca cerebrale si è repertato un folto aggregato di voluminosi elementi simplasmici, GFAP-negativi, attorno ai quali si sono osservati focolai di demielinizzazione.

Le encefaliti, riscontrate in ben 12 dei 37 cetacei esaminati (32,4%), assumevano - in 9 dei suddetti animali (24,3% sul totale dei soggetti considerati; 75% sul totale dei casi di encefalite) - aspetti lesivi verosimilmente ascrivibili ad un'eziologia virale, ed interessavano rispettivamente 8 stenelle ed 1 balenottera minore (*B. acutorostrata*) rinvenuta spiaggata sulle coste della Toscana nel 1993.

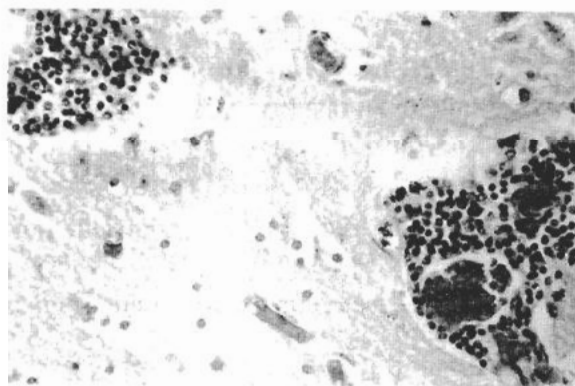


Figura n. 1: *S.coeruleoalba*. Encefalite morbillivirale. Spessi manicotti di cellule infiammatorie mononucleate si osservano in posizione perivasale. In vicinanza dei suddetti focolai sono pure presenti piccoli gruppi di elementi protozoari riferibili a *Toxoplasma*. Ematossilina-eosina, medio ingrandimento.

Di tali casi, ben 6 - tutti in stenelle (3 delle quali spiaggiate sulle coste pugliesi nel 1991, 1 sulle coste laziali nel 1991 e 2 su quelle toscane nel 1993) - sono stati immunoistochimicamente classificati come encefaliti morbillivirali, con tipici focolai lesivi in sede corticale o subcorticale (Fig. n. 1). A seconda dei casi, le lesioni hanno manifestato una disposizione prevalentemente laminare o multifocale, mentre numerosi neuroni a livello della sostanza grigia cerebrale e, assai

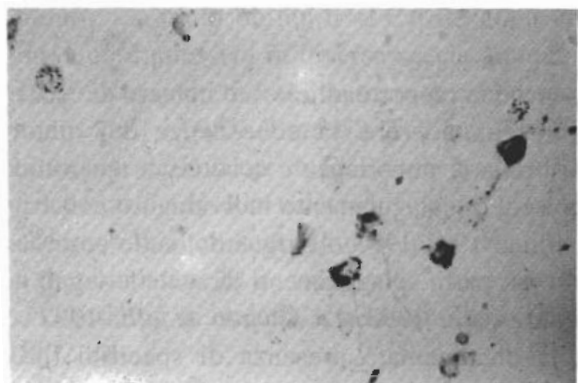


Figura n. 2: *S.coeruleoalba*. Encefalite morbillivirale. Reazione immunoperoxidasica intensamente positiva nei confronti di specifici antigeni morbillivirali (antigeni H) a livello di gruppi di neuroni corticali. Metodo avidina-biotina-perossidasi (ABC method). Colorazione di contrasto con ematossilina di Mayer, medio ingrandimento.

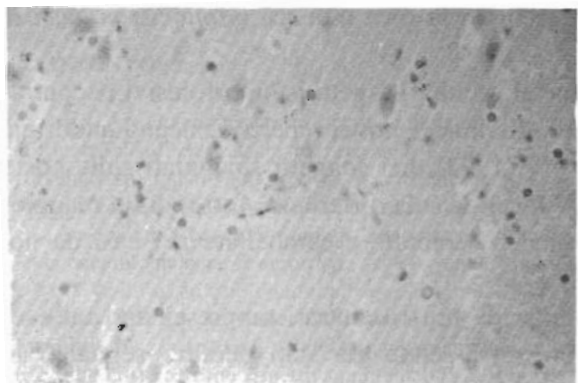


Figura n. 3: *S.coeruleoalba*. Encefalite da *Toxoplasma* associata ad encefalite morbillivirale. Numerosi elementi protozoari, per lo più riuniti in piccoli gruppi, si osservano a livello di sostanza grigia, in prossimità del confine con la sostanza bianca cerebrale. Ematossilina-cosina, medio ingrandimento.

Cowdry A, all'interno di numerosi neuroni della corteccia cerebrale non positivi per Morbillivirus e Herpesvirus.

meno frequentemente, cerebellare, hanno presentato intensa immunopositività, soprattutto perinucleare, citoplasmatica ed assoplasmatica, nei confronti di specifici antigeni (P e H) morbillivirali (Fig. n.2). In alcuni soggetti l'immunolocalizzazione degli antigeni virali è stata osservata in corrispondenza di voluminose inclusioni presenti all'interno del nucleo dei neuroni. Inoltre, quadri di encefalite da *Toxoplasma*, peraltro di non infrequente riscontro nei cetacei della presente indagine, sono stati rinvenuti associati a lesioni di encefalite morbillivirale in due stenelle rinvenute spiaggiate sulle coste toscane nel 1993 (Fig. n. 3).

Da segnalare che, sempre nell'ambito dei riscontri encefalitici, appare degno di nota un altro tipico caso di encefalite virale, diagnosticato in una stenella adulta spiaggiate sulle coste laziali nel 1993. L'elemento lesivo di più spiccato interesse era costituito, nel soggetto in esame, dalla presenza di voluminose inclusioni intranucleari, acidofile, del tipo

DISCUSSIONE

Sulla base dei risultati ottenuti, anche in rapporto all'elevato numero di cetacci esaminati, si può ragionevolmente ritenere che la conoscenza dei quadri neuropatologici rivesta un ruolo di primaria importanza e costituisca una valida chiave di lettura nell'interpretare episodi di spiaggiamento individuali o collettivi verificatisi sulle nostre coste nel periodo 1991-1993. Al riguardo, sulle coste del nostro Paese sono stati segnalati, da più parti, spiaggiamenti di stenelle legati ad infezioni morbillivirali (Buonavoglia *et alii*, 1992; Di Guardo *et alii*, 1992 a; Kennedy *et alii*, 1993). Inoltre, la documentata presenza di specifici titoli anticorpali neutralizzanti nel siero di soggetti appartenenti ad altre specie di mammiferi acquatici, come recentemente rilevato nella balenottera minore (*B. acutorostrata*) rinvenuta spiaggiata sulle coste toscane nel 1993, sembra rappresentare un ulteriore motivo di allarme, potendo suggerire, fra l'altro, una tendenza dell'agente virale in questione (DMV) a superare le barriere di specie ed a minacciare, pertanto, la sopravvivenza di popolazioni di mammiferi acquatici considerate già a rischio, quali ad esempio la foca monaca (*Monachus monachus*) (Domingo *et alii*, 1990).

Per quanto specificamente attiene ai peculiari aspetti istomorfolesivi riscontrati nelle 6 stenelle con encefalite morbillivirale, i nostri reperti ricalcano quelli già descritti, ad opera di Domingo *et alii* (1992), nei soggetti spiaggiati sulle coste spagnole durante l'epidemia del 1990, con la sola differenza, forse, di un maggiore coinvolgimento della sostanza bianca cerebrale e cerebellare nei casi da noi osservati.

I quadri di toxoplasmosi cerebrale da noi riscontrati rappresentano un'evenienza patologica di notevole interesse, essendo già stati peraltro segnalati in stenelle positive per Morbillivirus spiaggiate sulle coste spagnole nel 1990 (Domingo *et alii*, 1992). L'associazione di tali processi morbosi, encefalite da Morbillivirus e da *Toxoplasma*, è stata pure segnalata in cani affetti da cimurro, dove si assiste solitamente, in questi casi, alla riattivazione di una toxoplasmosi latente (Dungworth, 1993). In effetti, analogamente ad altri morbillivirus dei mammiferi terrestri ed acquatici, anche il DMV sarebbe in grado di esplicare una marcata attività immunodepressiva (Domingo *et alii*, 1992), e ciò può sicuramente contribuire a spiegare il contestuale reperto di toxoplasmosi cerebrale disseminata osservato in una delle nostre 2 stenelle. Comunque, un discorso approfondito su tale questione non può certo prescindere da un'attenta valutazione degli effetti biologici espliciti pure da alcune categorie di contaminanti ambientali, quali in particolare i metalli pesanti ed i composti organoclorurati. Fra questi ultimi, ap-

punto, i policlorobifenili (PCBS), già rivelatisi capaci di svolgere attività immunosoppressiva in diverse specie animali da laboratorio (Thomas e Hinsdill, 1978), sono stati ritenuti in grado di esplicare un sinergismo d'azione patogena nei confronti del DMV (Borrell e Aguilar, 1991). A conferma di quanto sopra, è bene ricordare sia i valori di PCBs, sia quelli di 4-4'DDE (un metabolita del DDT) determinati a livello del tessuto adiposo sottocutaneo delle 2 stenelle in esame, che sono risultati sensibilmente più elevati di quelli riscontrati in altri cetacei da noi esaminati nello stesso periodo e non infetti da DMV, sebbene nostre precedenti esperienze in materia abbiano prodotto risultati contrastanti (Di Guardo *et alii*, 1992 d).

RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia vivamente il Dr. A. Trudgett per aver fornito gli anticorpi monoclonali nei confronti del virus PDV-1 utilizzati nel presente studio.

RIASSUNTO

Gli AA. hanno eseguito accurate indagini anatomico-istopatologiche ed immunocistochemiche sull'encefalo di 37 cetacei (31 stenelle, 4 tursiopi, 1 balenottera comune, 1 balenottera minore) rinvenuti spiaggiati, nell'arco di 3 anni consecutivi (1991-1993), sulle coste laziali (8 soggetti), toscane (8 soggetti) e pugliesi (21 soggetti).

Lesioni di frequente riscontro sono stati i processi malacici (56,7%), in forma soprattutto di leucoencefalomalacia, le emorragie (27%) e le encefaliti (32,4%), di cui 3 casi (8,1%) da *Toxoplasma* e 9 casi (24,3%) ad eziologia virale, questi ultimi diagnosticati rispettivamente in 8 stenelle (*Stenella coeruleoalba*) ed in 1 balenottera minore (*Balaenoptera acutorostrata*) risultata sieropositiva per Morbillivirus. In 6 stenelle, 3 delle quali spiaggiate sulle coste pugliesi nel 1991, 1 sulle coste laziali e 2 sulle coste toscane rispettivamente nel 1991 e nel 1993, le indagini immunocistochemiche hanno consentito il rilievo di specifici antigeni morbillivirali nei tessuti in esame. Da segnalare infine, in 2 stenelle, la presenza congiunta di processi encefalitici da Morbillivirus e da *Toxoplasma*.

SUMMARY

Detailed anatomico-histomorphological and immunohistochemical investigations were carried out on the brain tissue of 37 cetaceans (31 striped dolphins, 4 bottle-nosed dolphins, 1 fin whale, and 1 minke whale), found stranded from 1991 to 1993 on the coasts of Latium (8 subjects), Tuscany (8 subjects), and Apulia (21 subjects). Frequently encountered lesions included malacia (56.7%), often occurring as leucoencephalomalacia, haemorrhage (27%), and encephalitis (32.4%), which in 3 cases (8.1%) was caused by *Toxoplasma* and in 9 cases (24.3%) had a viral etiology. Viral encephalitis was observed in 8 striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) and in an adult minke whale (*Balaenoptera acutorostrata*) seropositive to Morbillivirus, respectively. Morbillivirus specific antigens were immunocytochemically demonstrated in the brain tissue from 6 of the above striped

dolphins, 3 of which stranded on the coast of Apulia and one on the coast of Latium in 1991, while 2 more on the coast of Tuscany in 1993. Finally, an additional interesting finding was represented by the coexistence, in 2 striped dolphins, of a morbilliviral and a *Toxoplasma* encephalitis.

PAROLE CHIAVE: Neuropatologia, encefalite, Morbillivirus, *Toxoplasma*, mammiferi acquatici, cetacei.

KEY-WORDS: Neuropathology, encephalitis, Morbillivirus, morbilliviruses, *Toxoplasma*, sea mammals, cetaceans.

BIBLIOGRAFIA

- 1) **Agrimi U., Di Guardo G., Morelli L., Benvenuti A., Kennedy S.** (1993) - Spiaggiamenti di cetacei sulle coste italiane dal 1986 al 1991. Rilievi patologici ed epidemiologici. *Il Progresso Veterinario* 48 (19): 620.
- 2) **Borrell A., Aguilar A.** (1991) - Pollution by PCB_s in striped dolphins affected by the Western Mediterranean Epizootic. In: *Proceedings of the Mediterranean Striped Dolphin Mortality Workshop*, November 1991, Palma de Mallorca, p. 121.
- 3) **Buonavoglia C., Tempesta M., Marsilio F., Tiscar P.G., Marano G., Compagnucci M.** (1992) - Presenza di *Morbillivirus* in organi di delfini spiaggiati sulle coste pugliesi nel 1991. *Bollettino della Società Italiana di Patologia Ittica* 4 (8): 1.
- 4) **Bryden M.M., Harrison R.** (1986) - Research on Dolphins. Clarendon Press, Oxford.
- 5) **Di Guardo G., Agrimi U., Amaddeo D., McAliskey M., Kennedy S.** (1992 a) - Morbillivirus infection in a striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) from the coast of Italy. *Veterinary Record* 130: 579.
- 6) **Di Guardo G., Agrimi U., Amaddeo D., Kennedy S.** (1992 b) - L'infezione da *Morbillivirus* nei delfini ed in altre specie di mammiferi acquatici. *Obiettivi e Documenti Veterinari* 13 (9): 23.
- 7) **Di Guardo G., Agrimi U., Kennedy S.** (1992 c) - Aspetti di patologia comparata delle infezioni da *Morbillivirus* nei mammiferi acquatici. In: Atti Congresso Nazionale "Microscopia e Salute dell'Uomo", Roma, Istituto Superiore di Sanità, 24-27. Novembre, p. 56.
- 8) **Di Guardo G., Ubaldi A., Agrimi U., Cozzani R., Terracciano G., Carnevale M., Kennedy S.** (1992 d) - Policlorobifenili (PCBs) e metalli pesanti in organi e tessuti di stenelle (*Stenella coeruleoalba*) rinvenute spiaggiate sulle coste laziali e toscane: Rilievi chimico-analitici, istomorfolologici ed ultrastrutturali. In: Atti 46° Convegno Nazionale S.I.S. Vet., Venezia, 30 Settembre-3 Ottobre, p. 787.
- 9) **Domingo M., Ferrer L., Pumarola M., Marco A., Plana J., Kennedy S., McAliskey M., Rima B.K.** (1990) - Morbillivirus in dolphins. *Nature (London)* 348: 21.
- 10) **Domingo M., Visa J., Pumarola M., Marco A.J., Ferrer L., Rabanal R., Kennedy S.** (1992) - Pathologic and immunocytochemical studies of morbillivirus infection in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*). *Veterinary Pathology* 29: 1.
- 11) **Dungworth D.L.** (1993) - The respiratory system. In: Pathology of Domestic Animals, K.V.F. Jubb, P.C. Kennedy, N.Palmer, Eds, 4th ed., Academic Press, Inc., Orlando, Florida, U.S.A.

- 12) Grachev M.A., Kumarev V.P., Mamaev I.V., Zorin V.I., Baranova I.V., Denikina N.N., Belikov S.I., Petrov E.A., Kolesnik V.S., Kolesnik R.S., Dorofeev V.M., Beim A.M., Kudelin V.N., Nagieva F.G., Siderov V.N. (1989) Distemper virus in Baikal seals. *Nature (London)* 338:209.
- 13) Guarda F., Bollo E., Ferrero E., Gili C. (1992) - Neuropatologia dei delfini spiaggiati: Contributo casistico. *Obiettivi e Documenti Veterinari* 13 (11): 43.
- 14) Hall N.R., Schimpff R.D., Woodard J.C., Carleton C.C., Goldston R.T. (1977) - Intracerebral hemorrhage in a bottlenosed dolphin (*Tursiops truncatus*). *Journal of Wildlife Diseases* 13: 341.
- 15) Johnston D.G., Ridgway S.H. (1969) - Parasitism in some marine mammals. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 155: 1064.
- 16) Kennedy S., Smyth J.A., McCullough S.J., Allan G.M., McNeilly F., McQuaid S. (1988 a) - Confirmation of cause of recent seal deaths. *Nature (London)* 335: 404.
- 17) Kennedy S., Smyth J.A., Cush P.F., McCullough S.J., Allan G.M., McQuaid S. (1988 b) - Viral distemper now found in porpoises. *Nature (London)* 336: 21.
- 18) Kennedy S., Smyth J.A., Cush P.F., Duignan P., Platten M., McCullough S.J., Allan G.M. (1989) - Histopathologic and immunocytochemical studies of distemper in seals. *Veterinary Pathology* 26: 97.
- 19) Kennedy S., Smyth J.A., Cush P.F., McAliskey M., McCullough S.J., Rima B.K. (1991) - Histopathologic and immunocytochemical studies of distemper in harbor porpoises. *Veterinary Pathology* 28: 1.
- 20) Kennedy S., Lindstedt I.J., McAliskey M.M., McConnell S.A., McCullough S.J. (1992) - Herpesviral encephalitis in a harbor porpoise (*Phocoena phocoena*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 23: 374.
- 21) Kennedy S., Di Guardo G., McConnell S., Moffett D., Agrimi U. (1993) - Histological, histochemical and ultrastructural features of hyaline inclusions in hepatocytes of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*). *Journal of Comparative Pathology* 109: 179.
- 22) Lewis R.J., Berry K. (1988) - Brain lesions in a pacific white-sided dolphin (*Lagenorhynchus obliquidens*). *Journal of Wildlife Diseases* 24: 577.
- 23) Martin W.E., Haun C.K., Barrows K.S., Cravioto H. (1970) - Nematode damage to brain of striped dolphin (*Lagenorhynchus obliquidens*). *Transactions of the American Microscopic Society* 89: 200.
- 24) Morimitsu T., Nagai T., Ide M., Ishii A., Koono M. (1986) - Parasitogenic octavus neuropathy as a cause of mass stranding of odontoceti. *Journal of Parasitology* 72: 469.
- 25) Morimitsu T., Nagai T., Ide M., Kawano H., Naichuu A., Koono M., Ishii A. (1987) - *Journal of Wildlife Diseases* 23: 586.
- 26) Osterhaus A.D.M.E., Vedder E.J. (1988) - Identification of virus causing recent seal deaths. *Nature (London)* 335: 20.
- 27) Osterhaus, A.D.M.E., Groen J., Uytdehaag F.G.C.M., Visser I.K.G., Van De Bildt M.W.G., Bergman A., Klingeborn B. (1989) - Distemper virus in Baikal seals. *Nature (London)* 338: 209.
- 28) Ridgway S.H., Johnston D.G. (1965) - Two interesting disease cases in wild cetaceans. *American Journal of Veterinary Research* 26: 771.
- 29) Ridgway S.H., Dailey M.D. (1972) - Cerebral and cerebellar involvement of trematode parasites in dolphins and their possible role in stranding. *Journal of Wildlife Diseases* 8: 33.
- 30) Thomas P.T., Hinsdill R.D. (1978) - Effect of polychlorinated byphenils on the immune responses of Rhesus monkeys and mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* 44: 41.

SULLA PATOLOGIA ENDOCARDICA DELLE VOLPI

GUARDA F., MACCHI E.

Dipartimento di Patologia Animale
Facoltà di Medicina Veterinaria - TORINO

Se della volpe si conoscono piuttosto bene gli aspetti biologici ed eto-ecologici (Mac Donald, 1979), quali le abitudini alimentari (Leinati e coll., 1960), le densità stagionali (Artois, 1981) in un determinato ambiente, le predazioni (Peracino e coll., 1986) e gli aspetti epidemiologici (Biocca e coll., 1975), poco si sa sulla patologia, salvo forse alcuni aspetti parassitologici (Gäbler, 1966; Wetzel e Rieck, 1972; Biocca e coll., 1975) virali (Phillips, 1943; Green e coll., 1930; Chaffee, 1972; Habermann e coll., 1958; Hoff e coll., 1974) e batterici (Himes e coll., 1980; Graefner, 1986).

Infatti dalla letteratura risultano poche segnalazioni sulla patologia della volpe vissuta allo stato libero e in particolare sulla patologia cardiovascolare.

Per questi motivi abbiamo ritenuto interessante studiare la patologia endocardica nelle volpi.

OSSERVAZIONI PERSONALI

Si tratta di 156 volpi pervenuteci dal Servizio di Vigilanza Provinciale dalle province di Cuneo e di Vercelli. Gli animali erano per lo più adulti, dei quali 67 maschi e 89 femmine. Dal punto di vista anatomo-patologico si può rilevare che 19 erano colpite da rogna cutanea, 23 da *Dirofilaria immitis* nel tratto cardiopolmonare, 8 da alterazioni diverse al polmone. Per quanto riguarda in particolare l'endocardio si sono osservate le seguenti lesioni:

- endocardiosi al lembo settale della tricuspide n. 51;
- endocardiosi al lembo settale della tricuspide associata alla displasia del suddetto lembo n. 33;
- endocardite alla mitrale n. 3;
- metaplasia adiposa del lembo della mitrale n. 5;
- fibrosi valvolare della mitrale n. 5;
- cisti ematiche multiple circondate da fibrosi alla mitrale n. 1.

Di seguito descriviamo le alterazioni osservate.

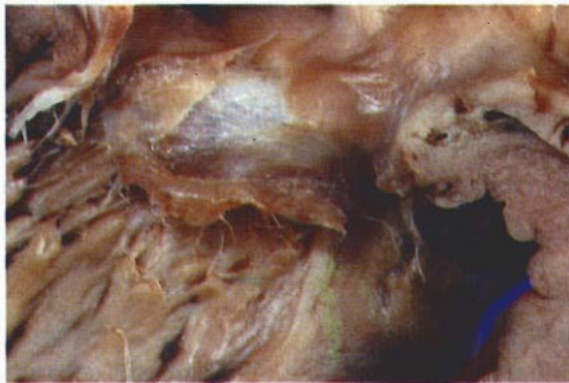


Fig. 1-2-3 Quadri di endocardiosi al lembo settale della tricuspide.

ENDOCARDIOSI AL LEMBO SETTALE DELLA TRICUSPIDE

Macroscopicamente il lembo settale della valvola tricuspide appariva aumentato di spessore, di aspetto translucido, con il margine libero arrotondato e talvolta distorto (figg. 1-2-3). Generalmente tutta la superficie del lembo era alterata. In 33 casi su 51, l'endocardiosi era associata ad un fenomeno displasico che si estrinsecava in un accorciamento delle corde tendinee che nei casi gravi rendeva il lembo strettamente aderente al sottostante endocardio settale. Istopatologicamente si notano i vari stadi evolutivi della lesione endocardiosa, dai primi piccoli focolai di tessuto mixomatoso nel contesto della struttura valvolare ancora indenne all'interessamento dello strato ventricolare sino al coinvolgimento di tutta la valvola che altera e distrugge tutta l'architettura (figg. 4-5-6-7-8).

Il tessuto mixomatoso con cellule stellate di tipo embrionale, nel contesto di una abbondante sostanza fondamentale, è metacromatico e Alcian positivo (fig. 9). In queste sedi le fibre elastiche sono pressochè scomparse, residuando piccoli

ed esili frammenti, così come le fibrille reticolari.

Talvolta le corde tendinee sono coinvolte dal processo degenerativo.

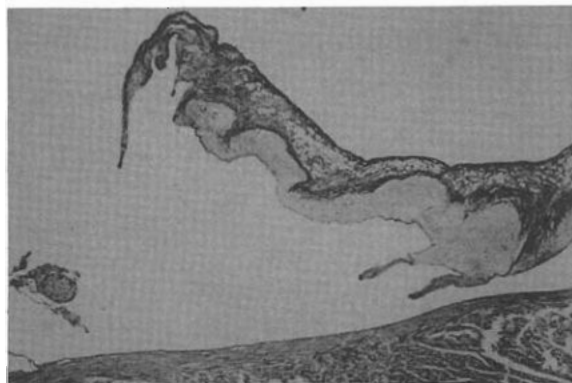
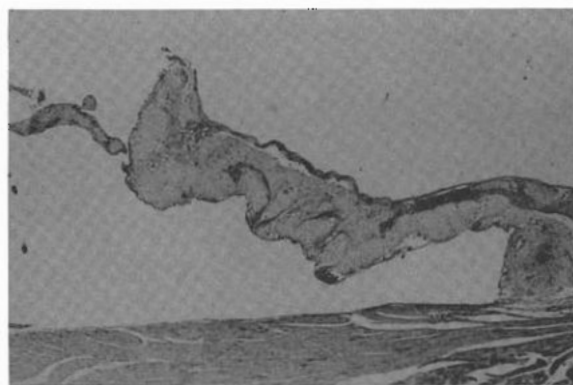


Fig. 4 Lembo settale della tricuspide con endocardiosi dello strato ventricolare (E.F. piccolo ingrand.).



Figg. 5-6
Quadri diversi di endocardiosi del lembo settale della tricuspide nei quali tutta la valvola è coinvolta dall'endocardiosi (E.E., Weigert-Van- Giem, piccolo ingrand.).

ENDOCARDITE DELLA MITRALE

In tre animali istopatologicamente è evidente nella valvola mitrale una infiltrazione flogistica del tessuto particolarmente sensibile attorno ai vasellini ematici presenti. Si tratta di cellule mononucleate frammiste a rari granulociti neutrofili (fig. 10).

In tutti e tre i casi alcuni settori delle valvole erano in preda a fenomeni di endocardiosi.

METAPLASIA ADIPOSITA DELLA MITRALE

E' noto come nei carnivori selvatici siano presenti cellule adipose nel tessuto valvolare. La loro quantità, seppure variabile da caso a caso, non supera mai un certo limite, disseminate a piccoli focolai sotto lo strato fibro-elastico atriale.

In cinque animali il lembo settale era invece costituito praticamente da un accumulo di cellule adipose che occupava tutto lo spessore valvolare, demarcato perifericamente da una sottile lamina connettivale atriale e ventricolare (fig. 11). In queste zone ovviamente la struttura del lembo era completamente alterata e sostituita da tessuto adiposo. In tutti questi casi nel lembo sono associati fenomeni di fibrosi.

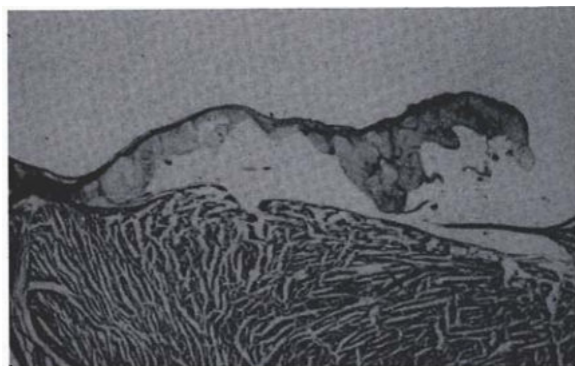


Fig. 7 - Quadri diversi di endocardiosi del lembo settale della tricuspide nei quali tutta la valvola è coinvolta dall'endocardiosi (E.E., Weigert-Van- Giemsa, piccolo ingrand.).

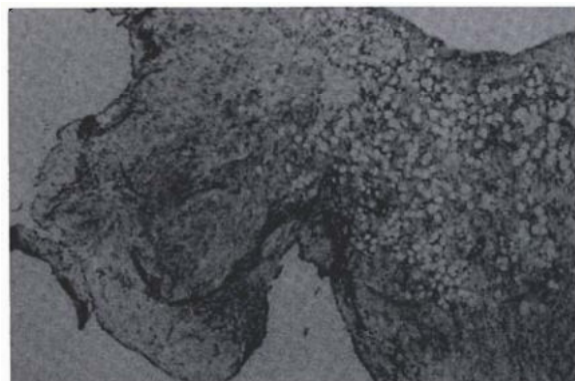


Fig. 8 - Particolare del tessuto mixomatoso in un lembo colpito da endocardiosi (E.E. medio ingrand.).



Fig. 9 - Lembo valvolare con endocardiosi: la parte coinvolta dal processo è intensamente alcian positiva (E.E.

FIBROSI VALVOLARE DELLA MITRALE

Soltanto in cinque animali è presente una fibrosi dei lembi della mitrale con sostituzione completa della stuttura con tessuto connettivale fibroso, analogamente a quanto avviene frequentemente nei carnivori domestici (fig. 11).

CISTI EMATICHE DELLA MITRALE

In un solo animale è stato osservato in un lembo mitralico un gruppo di cisti ematiche nel contesto del tessuto. Si tratta in effetti della presenza di una grossa cisti circondata da altre cisti più piccole, tutte ripiene di sanguc. Alla periferia una capsula fibrosa delimita il gruppo cistico dal contesto tessutale in preda a metaplasia adiposa (fig. 12).

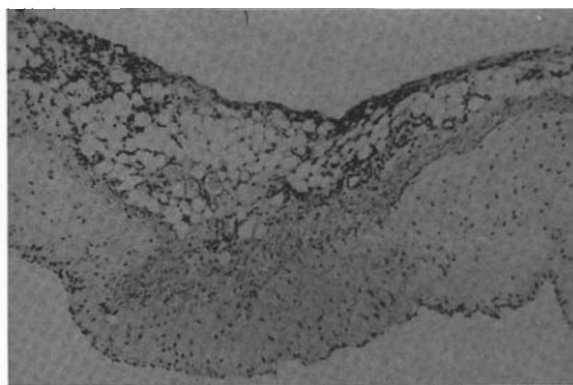


Fig. 10 - Lembo della mitrale con infiltrato flogistico (E.E. medio ingrand.).

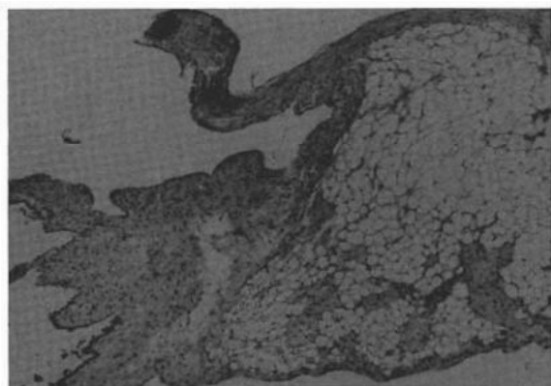


Fig. 11 - Lembo della mitrale con metaplasia adiposa del tessuto associata a fibrosi (E.E. piccolo ingrand.).



Fig. 12 - Gruppo di cisti ematiche nella mitrale colpite da metaplasia adiposa (E.E. piccolo ingrand.).

CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

Dalla bibliografia consultata non ci risultano ricerche sistematiche sulla patologia della volpe vissuta allo stato libero, salvo la descrizione di episodi legati a singole malattie. Pertanto nell'ambito della patologia comparata ci sembrano interessanti ed opportune in generale le ricerche sulle specie animali selvatiche per poter avere dei parametri obbiettivi di comparazione tra l'una e l'altra specie animale.

Nella volpe in particolare per la patologia cardio-vascolare sono note poche segnalazioni.

Si può ricordare Philo e coll. i quali hanno segnalato una insufficienza della valvola mitrale in una volpe artica (*Alopex lagopus*). In questo soggetto la valvola mitrale presentava prolassi conseguenti ad endocardite ed endocardiosi.

Norstoga e Westbye (1976) descrissero la periarterite nodosa in volpi blu sovrapponibile alle lesioni osservate in altre specie animali.

Norstoga (1986) ha osservato degenerazione muscolare e miocardica da carenza di vit. E e selenio nelle volpi argentate.

Hirth e Nielsen (1966) si sono soffermati sulla patologia

cardiovascolare associata alla dirofilariasi, così come Guarda e coll. (1994).

In particolare in base ai risultati delle nostre ricerche sulle volpi vissute libere nelle provincie piemontesi, possiamo affermare quanto segue:

- 1) per quanto riguarda la filariasi cardiopolmonare le volpi possono essere considerate a rischio soltanto nelle zone nelle quali la percentuale dei cani infestati si aggira sul 90% circa come per es. nella provincia di Vercelli; nelle volpi provenienti dalla provincia di Cuneo nessun soggetto è risultato infestato da questa parassitosi.
- 2) la patologia cardiaca delle volpi sembra avere una incidenza nettamente inferiore rispetto ai carnivori domestici.
- 3) tuttavia esistono differenze nella patologia endocardica tra i carnivori selvatici e quelli domestici. Infatti, per quanto riguarda l'endocardiosi valvolare, mentre nel cane è più frequentemente colpita la valvola mitrale, nelle volpi è maggiormente lesa il lembo settale della tricuspide (32,06%) che si accompagna nella quasi totalità dei casi a displasia dello stesso lembo.

Tanto la mitrale, quanto il resto della tricuspide non sono colpite in modo significativo.

Questo evento sembra piuttosto strano e singolare in quanto in nessuna altra specie animale, nella quale è nota l'endocardiosi, si è mai notata una siffatta localizzazione. A parte il fatto che non vi è alcuna correlazione tra la localizzazione dell'endocardiosi al lembo settale della tricuspide e le altre patologie cardiache concomitanti, come per es. la dirofilariasi, potrebbe portare un pò di luce all'interpretazione di questo fenomeno la costante associazione tra endocardiosi e la displasia del lembo settale.

Infatti forse la malformazione displasica potrebbe influire in qualche modo sull'insorgenza dell'endocardiosi; tale concomitanza potrebbe far pensare ad una predisposizione costituzionale per entrambe le lesioni oppure che il malfunzionamento del lembo valvolare possa influenzare l'alterato metabolismo del lembo valvolare interessato.

Ovviamente queste sono unicamente ipotesi che necessitano di una conferma che oggi non si può dare in quanto mancano gli elementi obbiettivi di giudizio.

4) sulla endocardite della mitrale e sulla fibrosi valvolare non vi è molto da dire in quanto tali lesioni sono nettamente sovrapponibili a quelle osservate nei carnivori domestici. La prima riconosce con ogni verosimiglianza una origine infettiva e la seconda rappresenta l'esito evolutivo finale della prima a distanza di tempo.

5) un'altra lesione differente, sempre rispetto ai carnivori domestici, è la metaplasia adiposa che interessa parti della valvola. Essa non è conosciuta in altre specie animali e non si può affermare se costituisce un elemento caratteristico

della volpe. Probabilmente anche questa alterazione, indubbiamente cronica, potrebbe rappresentare una evoluzione di lesioni pregresse di cui non conosciamo l'origine. Ulteriori ricerche potranno portare un contributo alla risoluzione di questo problema.

6) infine la presenza delle cisti ematiche nell'ambito valvolare, conosciute e piuttosto frequenti in altre specie domestiche, presenta alcuni elementi differenziali nella volpe, quale per es. il raggruppamento di più cisti, di volume e calibro differente; quello che rende perplessi sulla loro interpretazione, è l'esistenza di una capsula fibrosa che delimita la zona cistica dal rimanente tessuto valvolare.

In conclusione le alterazioni endocardiche osservate nelle volpi sembrano essere quanto mai interessanti ed attuali ed aprono tutta una serie di problematiche di patologia endocardica comparata che in base alle conoscenze attuali sono solo in parte interpretabili.

RIASSUNTO

Gli A.A. sulla base delle ricerche compiute su 156 volpi abbattute nelle province piemontesi hanno osservato la presenza di dirofilariasi cardio-polmonare in 23 animali, l'endocardiosi del lembo settale della tricuspide in 51, in 33 dei quali era associata la displasia valvolare, fibrosi valvolare in 5, metaplasia adiposa in 5, endocardite alla mitrale in 3 e cisti ematiche in un soggetto. Dai risultati ottenuti gli A.A. traggono alcune considerazioni di patologia comparata endocardica.

BIBLIOGRAFIA

- 1) **Artois M.** (1981) - Methodes de denombrement des populations de renards roux. Office National de la Chasse, n. 47, 23.
- 2) **Biocca E., Balbo T., Guarda F. e Costantini R.** (1975) - L'importanza della volpe (*Vulpes vulpes*) nella trasmissione della sarcosporidiosi dello stambecco (*Capra ibex*) nel Parco Nazionale del Gran Paradiso. Parassitologia 17, 17.
- 3) **Chaffee P.S.** (1972) - An outbreak of fox encephalitis in vaccinated wild canine. J. zoo Anim. Med. 3, 5.
- 4) **Gaebler H.** - Wildkrankheiten, Deutscher Bauernverlag, Dresda, 1957.
- 5) **Graefner G.** - Wildkrankheiten, Fischer, Jena, 1986.
- 6) **Green R.G., Ziegler N.R., Green B.B. e Dewey E.T.** (1930) - Epizootic fox encephalitis. I general description. An. J. Hyg. 12, 109.
- 7) **Guarda F., Macchi E. e Garippa G.** (1994) Epidemiologia e patologia della filariasi cardiopolmonare nella volpe (*Vulpes vulpes*) in provincia di Vercelli. In corso di stampa su O.d.V.
- 8) **Habermann R.T., Herman C.M. e Willimas F.P.** (1958) - Distemper in racoons and foxes suspected of having rabies. J.A.V.M.A. 132, 31.

- 9) **Himes E.M., Luchsinger D.W., Jarnagin J.L., Thoen C.O., Hhood H.B. e Ferrin D.A.** . (1980) Tuberculosis in fennec foxes. *J.A.V.M.A.* 177, 825.
- 10) **Hirt R.S. e Nielsen S.W.** (1966) - Vascular lesions of *Dirofilaria immitis* in the red fox. *JAVMA* 149, 915.
- 11) **Hoff G.J., Bigler W.J., Proctor S.J. e Stalling L.P.** (1974) - Epizootic of canine distemper virus infection among urban racoons and grey foxes. *J. Wildl. Dis.* 10, 423.
- 12) **Leinati L., Mandelli G., Videsott R. e Grimaldi E.** (1960) - Indagini sulle abitudini alimentari della volpe (*Vulpes vulpes*) del Parco Nazionale Gran Paradiso. *Collana Scientifica Parco Nazionale Gran Paradiso*, 1960.
- 13) **Mac Donald D.W.** (1979) - Helpers in fox society. *Nature* 282, 69.
- 14) **Norstoga K.** (1972) - Nosematosis in blue foxes. *Nord. Vet. Med.* 24, 21.
- 15) **Norstoga K. e Westbye K.R.** (1976) Polyarteritis nodosa associated with nosematosis in blue foxes. *Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. A.* 84, 291.
- 16) **Norstoga W.** (1986) - Muscular and Myocardial degeneration in silver fox (*Vulpes vulpes*). *Nord. Vet. Med.* 38, 190.
- 17) **Peracino V., Bassano B., Durio P. e Malano A.** (1986) - La volpe (*Vulpes vulpes*) nel Parco Nazionale del Gran Paradiso. Valutazione della sua presenza e diffusione (1981-1985). *Collana Scientifica Parco Naz. Gran Paradiso*, Torino, 1986.
- 18) **Phillips C.E.** (1943) - Haemorrhagic enteritis in the arctic blue fox caused by the virus of feline enteritis. *Can. J. Comp. Med.* 1, 33.
- 19) **Philo L.M., Patterson D.F. e Buchanan J.W.** Mitral valve insufficiency in an arctic fox. *Estratto*.
- 20) **Wetzel R. e Rieck W.** - *Krankheiten des Wildes*, Parey, Amburgo, 1972.

ECOLOGIA DELLA ZECCA *IXODES DAMMINI* IN UN'AREA ENDEMICA PER BORRELIOSI DI LYME IN ILLINOIS

MANNELLI A.*, KITRON U.***, JONES C.J.***, SLAJCHERT T.L.***

* Dipartimento di Produzioni Animali, Epidemiologia ed Ecologia
Facoltà di Medicina Veterinaria - TORINO

** Department of Veterinary Pathobiology, College of Veterinary Medicine
University of Illinois at Urbana Champaign - Illinois, USA

INTRODUZIONE

La borreliosi di Lyme, identificata nella metà degli anni settanta nella cittadina di Old Lyme, nello stato americano del Connecticut (Steer & Malawista 1979), è la malattia trasmessa da vettori più frequentemente riportata nell'uomo in America settentrionale ed in Europa (Kahl 1991). La distribuzione geografica dell'infezione è condizionata da fattori ambientali come clima, suolo, e copertura vegetale favorevoli al ciclo biologico delle zecche vettori (Ixodidae) ed agli animali selvatici serbatoi dell'agente eziologico della malattia, *Borrelia burgdorferi* (Nosck 1978, Spielman et al 1985, Lanc et al 1991, Needham & Teel 1991).

Gran parte degli studi sull'ecologia della borreliosi di Lyme è stata condotta negli Stati Uniti nordorientali, dove il vettore *Ixodes dammini* (per alcuni autori conspecifica di *I. scapularis* [Olivier et al. 1993]) si trova soprattutto in aree boschive od in aree di transizione fra prato e foresta (ecotoni) (Ginsberg & Ewing 1989, Stafford & Magnarelli 1993). Lo stadio adulto della zecca si nutre in preferenza sul cervo dalla coda bianca (*Odocoileus virginianus*), mentre gli stadi immaturi (larve e ninfe) sono meno ospite-specifici, e sono stati trovati su 31 specie di mammiferi e su 49 specie di uccelli (Anderson 1988). Nonostante questo, il topo selvatico *Peromyscus leucopus* è considerato il più importante ospite per le zecche immature (soprattutto larve) ed il principale serbatoio per *B. burgdorferi*. Altri roditori e mammiferi di media taglia giocherebbero un ruolo secondario (Spielman et al 1985, Mather et al. 1989).

Nelle aree endemiche del nordest degli U.S.A., lo stadio ninfale di *I. dammini* è attivo soprattutto in tarda primavera -inizio estate, mentre le larve sono più abbondanti in agosto, dopo la schiusa delle uova. Questo andamento temporale è considerato favorevole per la trasmissione di *B. burgdorferi*, poichè le ninfe infettano gli animali ospiti in maggio-giugno, che a loro volta trasmettono le

spirochete alla nuova generazione di larve attive in agosto (Yuval & Spielman 1990).

Nel Midwest settentrionale, la borreliosi di Lyme è diffusa in Wisconsin ed in Minnesota (Davis et al. 1984, Drew et al. 1988). Inoltre, un' area endemica per *I. dammini* e *B. burgdorferi* è stata individuata nel 1987 a Castle Rock State Park, nell'Illinois nordoccidentale (Bousemann et al. 1990, Nelson et al. 1991). Il parco costeggia il fiume Rock River ed è caratterizzato da una morfologia aspra con affioramenti di arenaria. Il 70% dell'area è ricoperta da foresta dominata da querce (*Quercus spp.*) e noce americano (*Carya spp.*); sono anche presenti, nelle parti più umide del parco, boschi misti di aceri (*Acer spp.*) e pioppi (*Populus spp.*), ed ambienti di passaggio da prato a foresta (ecotoni).

Nel 1990, Kitron et al. (1991) catturarono piccoli roditori a Castle Rock State Park, e trovarono che la prevalenza (la proporzione degli ospiti infestati dal parassita) e la densità media (il numero medio di parassiti per ospite) delle larve di *I. dammini* su *P. leucopus* erano paragonabili a quelle riportate da aree endemiche nel nordest degli U.S.A. Al contrario, i livelli d'infestazione da ninfe erano più bassi: la densità media raggiungeva al massimo 0,125 ninfe per ospite, mentre in Connecticut ed in Massachusetts erano state trovate, rispettivamente, 3,4 e 6 ninfe per topo (Anderson & Magnarelli 1984, Wilson & Spielman, 1985). Kitron et al. (1991) suggerirono che specie diverse da *P. leucopus* (altri mammiferi ed uccelli) potessero essere i principali ospiti per gli stadi immaturi di *I. dammini* in Illinois. Sulla base di questa ipotesi, durante il periodo maggio-ottobre 1991, abbiamo studiato il ruolo di mammiferi di piccola e media taglia come ospiti per gli stadi immaturi di *I. dammini* a Castle Rock State Park. Gli obiettivi della nostra indagine erano: (1) definire il ruolo del tamia orientale (*Tamias striatus*) come ospite per zecche immature (Anderson & Magnarelli 1980; Godsey et al. 1987); (2) studiare il ruolo di mammiferi di media taglia, considerando anche la proporzione di zecche che mutano allo stadio successivo dopo aver assunto sangue dai vari ospiti; (3) confrontare l'abbondanza di zecche e l'importanza delle specie ospiti in ambienti diversi per suolo, umidità, e copertura vegetale; (4) confrontare l'andamento temporale degli stadi immaturi di *I. dammini* a Castle Rock State Park con quello descritto negli U.S.A. nordorientali.

MATERIALI E METODI

Trappole di 3 dimensioni (per piccoli roditori, sciuridi, e mammiferi di media taglia) venivano impiegate in tre biotopi all'interno del parco: foresta ben drenata dominata da querce, foresta umida dominata da aceri, ed ecotono prato-foresta. I

tre ambienti venivano caratterizzati per copertura vegetale (specie ed abbondanza) e suolo (tessitura ed umidità). Dopo la cattura, i piccoli roditori venivano esaminati per la presenza di zecche, identificati per specie e sesso, e liberati *in situ*. I tamia venivano anestetizzati con ketamina HCl (3 mg) ed acepromazina maleato (0.3 mg) per via intramuscolare, esaminati, marcati con marche auricolari numerate, e liberati sul luogo di cattura (Mannelli et al 1993a). I mammiferi di media taglia venivano portati in appositi locali, anestetizzati, marcati, e mantenuti per 2-4 giorni in gabbie sospese sopra vasche contenenti acqua. Le vasche erano controllate ogni 12 ore, e le zecche staccatesi dagli animali venivano raccolte e mantenute in laboratorio per circa un mese, fino alla muta allo stadio successivo od alla morte (Fish & Daniels 1990, Mannelli et al. 1993b).

Prevalenza e densità media di zecche immature su *T. striatus* e *P. leucopus*, venivano confrontate nei tre biotopi in 4 periodi di campionamento (24-26 giugno, 8-17 luglio, 6-22 agosto, 12 ottobre). Periodo di campionamento, tipo di habitat, e sesso dell'ospite (variabili indipendenti) ed abbondanza di larve raccolte da *P. leucopus* (variabile dipendente) venivano sottoposti ad analisi di regressione lineare multipla con codificazione ortogonale (Cohen & Cohen, 1983, SAS 1990). L'effetto delle stesse variabili indipendenti sul rischio di infestazione di *P. leucopus* da parte di ninfe veniva sottoposto ad analisi di regressione logistica multipla. Le densità medie delle larve su *T. striatus* e su *P. leucopus* venivano combinate con le densità di popolazione delle due specie nei tre biotopi, e con i valori di infettività (la proporzione di larve che risultano infette con *B. burgdorferi* dopo essersi nutrite su di una specie ospite) ottenuti da Mather et al. (1989). Il modello matematico che si otteneva forniva una stima del contributo relativo di una specie ospite alla trasmissione delle spirochete (R: reservoir potential [Mather et al. 1989, Kitron & Mannelli (1994). Un modello log-lineare (SAS 1990) era applicato ai tassi di muta di larve e ninfe nutritesi su procioni (*Procyon lotor*), opossum (*Didelphis virginiana*), e su scoiattoli volpe (*Sciurus niger*), usando lo stadio di *I. dammini* e la specie dell'ospite come variabili indipendenti.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Abbiamo catturato (escludendo le ricatture) 38 tamia orientali, 27 *P. leucopus*, 14 procioni, 8 opossum, 10 scoiattoli volpe, 1 scoiattolo grigio (*Sciurus carolinensis*), 3 silvilaghi (*Sylvilagus floridanus*), 4 ghiandaie azzurre (*Cyanocitta cristata*), ed altri 13 soggetti fra microroditori ed insettivori. Prevalenza e densità media di *I. dammini* sulle specie ospiti sono riportate in Tavole 1 (larve), e 2 (ninfe); i dati ottenuti dalla ricattura degli stessi soggetti a più di una settimana

da una precedente cattura sono stati inclusi, mentre i dati di ricatture a meno di una settimana sono stati esclusi. La prevalenza dello stadio larvale era alta in tutte le specie, la densità media era più alta nei procioni e negli opossum, che erano stati catturati soprattutto in foresta di aceri. La prevalenza, per le ninfe, era elevata in tutte le specie eccetto *P. leucopus*. Il numero di ninfe per ospite era elevato nelle ghiandaie azzurre e particolarmente bassa per *P. leucopus*.

Tavola 1 - *Ixodes dammini* su fauna in Illinois, 1991
larve

Specie	Prevalenza (n)	Densità media (SD)	Muta
<i>Peromyscus leucopus</i>	97,6 (82)	10,3 (9,3)	-
<i>Tamias striatus</i>	90,7 (54)	14,7 (18,6)	-
<i>Procyon lotor</i>	92,9 (15)	207,0 (420,3)	36,2%
<i>Didelphis virginiana</i>	100 (8)	90,5 (61,8)	37,1%
<i>Sciurus niger</i>	100 (10)	27,3 (46,2)	82,7%
<i>Sciurus carolinensis</i>	100 (1)	71,0	97,1%
<i>Sylvilagus floridanus</i>	66,6 (3)	52,2 (30,2)	36,4%
<i>Cyanocitta cristata</i>	100 (4)	11,2 (3,8)	-

Tavola 2 - *Ixodes dammini* su fauna in Illinois, 1991
ninfe

Specie	Prevalenza (n)	Densità media (SD)	Muta
<i>Peromyscus leucopus</i>	13,4 (82)	0,28 (0,88)	-
<i>Tamias striatus</i>	87,0 (54)	16,9 (16,7)	-
<i>Procyon lotor</i>	100 (15)	32,2 (36,9)	43,1%
<i>Didelphis virginiana</i>	100 (8)	34,2 (38,3)	79,1%
<i>Sciurus niger</i>	100 (10)	27,7 (8,6)	85,9%
<i>Sciurus carolinensis</i>	100 (1)	82,0	93,9%
<i>Sylvilagus floridanus</i>	66,6 (3)	6,6 (6,9)	66,6%
<i>Cyanocitta cristata</i>	100 (4)	39,0 (20,4)	-

La disposizione delle trappole nei tre biotopi permetteva di individuare importanti differenze temporali e spaziali nei livelli d'infestazione di *T. striatus* e *P. leucopus*. *Tamias striatus* era catturato quasi esclusivamente in foresta querce, ed era pesantemente infestato da ninfe nel mese di giugno (prevalenza = 100%, densità media \pm deviazione standard = 27.9 ± 27.6) e da larve in agosto (prevalenza = 100%, densità media = 43.0 ± 51.2). I livelli d'infestazione da ninfe

riscontrati in *T. striatus* in foresta di querce erano significativamente più elevati di quelli riscontrati in *P. leucopus* nello stesso habitat ($P < 0.05$, Fisher's exact test, e Wilcoxon two sample test). Anche i livelli d'infestazione da larve erano superiori in *T. striatus* che in *P. leucopus*, ma la differenza non era statisticamente significativa. In foresta di querce, i valori di R (reservoir potential) per *T. striatus* e per *P. leucopus* erano, rispettivamente, 55,9 e 44,1. *Tamias striatus* contribuiva quindi alla trasmissione di spirochete ad *I. dammini* in misura maggiore di *P. leucopus*. In foresta mista di aceri ed in ecotono, i tamia erano molto scarsi, e *P. leucopus* era più importante sia come ospite per le zecche immature che come potenziale serbatoio per *B. burgdorferi*.

Il numero di larve su *P. leucopus* era significativamente più alto in piena estate (metà luglio-agosto, $P < 0.01$) che nel resto dei periodi di studio, mentre la prevalenza di ninfe sui topi era significativamente superiore in giugno ($P < 0.05$). Questo comportamento temporale delle forme immature di *I. dammini* è lo stesso che viene riportato dalle aree endemiche per borreliosi di Lyme nel nordest degli U.S.A..

Le zecche immature nutritesi sullo scoiattolo volpe mutavano in percentuali superiori di quelle nutritesi su procioni e su opossum, e le ninfe mutavano in percentuale più alta delle larve (Tavole 1 & 2). Il modello log-lineare mostrava effetti significativi di specie ospite e stadio delle zecche sulla percentuale di muta. L'interazione fra le due variabili risultava significativa ($P \ll 0.001$); infatti, i tassi di muta di larve e ninfe nutritesi su opossum erano significativamente diversi fra di loro (effetto "stadio") mentre tale effetto non era così marcato per zecche nutritesi su procioni ed era assente in zecche nutritesi su scoiattoli.

I nostri risultati indicano che il ciclo biologico di *I. dammini* nell'Illinois nordoccidentale si differenzia per alcune importanti caratteristiche da quello descritto nelle aree endemiche per borreliosi di Lyme nel nordest degli U.S.A.. Infatti, sciuridi come il tamia orientale e lo scoiattolo volpe erano più importanti di *P. leucopus* come ospiti per ninfe in foresta di querce. Nello stesso ambiente, *T. striatus* risultava anche più importante di *P. leucopus* come ospite per larve e poteva infettare un numero maggiore di larve con *B. burgdorferi*. Questo può essere in parte spiegato dalla bassa densità di popolazione di *P. leucopus* registrata in foresta di querce nel 1991. Le popolazioni di questa specie vanno incontro a fluttuazioni numeriche molto ampie in relazione a fattori ambientali (Sexton et al. 1982), e la scarsa densità che abbiamo osservato potrebbe essere attribuita alla siccità dell'estate 1991. Infatti, in nordovest Illinois, la pioggia caduta nel luglio 1991 ammontava solo ad un quarto delle precipitazioni medie per lo stesso mese, e la temperatura era più elevata della media di circa un grado. Gli effetti della

siccità erano più evidenti nella foresta di querce, un ambiente ben drenato ed asciutto, dove, in piena estate, l'umidità del suolo era solo del 7%, e la copertura erbacea era scarsa (25%). Al contrario, in foresta di aceri l'umidità del suolo si era mantenuta al 48,3% e la vegetazione erbacea al 65%, e *P. leucopus* era più numeroso.

In foresta di aceri ed in ecotono, gli sciuridi erano molto scarsi od assenti, mentre mammiferi di media taglia come procioni ed opossums erano importanti ospiti per zecche immature; *S. floridanus* era stato catturato solo in ecotono. *Cyanocitta cristata* era l'unica specie aviaria catturata, ed era infestata da cariche di ninfe molto più elevate di quelle riportate in precedenza (Battaly et al. 1987, riportano 0,17 ninfe per ghiandaia azzurra, mentre noi abbiamo raccolto 39 ninfe per soggetto). La ghiandaia azzurra può essere considerata importante per il mantenimento di *I. dammini* in foreste di querce e, analogamente ad altre specie di uccelli, responsabile della diffusione delle zecche fra aree geografiche diverse (Weisbrod & Johnson 1989).

Nonostante che, a causa del numero relativamente basso di animali esaminati, non si possano trarre conclusioni definitive sulle differenze fra i tassi di muta delle zecche immature che si nutrono sui vari ospiti, proponiamo il tasso di muta come un fattore in grado di influenzare il potenziale degli ospiti nel mantenimento della popolazione di *I. dammini* e nella trasmissione di *B. burgdorferi*, ed auspichiamo l'esecuzione di altri studi su questo argomento.

Con le nostre ricerche abbiamo contribuito alla conoscenza del ruolo di diverse specie di animali selvatici come ospiti per *I. dammini*, ed abbiamo caratterizzato l'andamento temporale degli stadi immaturi della zecca in Illinois. I nostri risultati forniscono le basi per ulteriori indagini sulla dinamica dei vettori e sulla trasmissione della borreliosi di Lyme; nello stato dell' Illinois, la vicinanza di aree endemiche e di aree indenni dà l'opportunità per studiare l'importanza dell' habitat, delle condizioni meteorologiche, e delle popolazioni di animali selvatici. I metodi di ricerca impiegati in Illinois possono essere applicati in aree geografiche lontane ed anche in paesi diversi. Il confronto dei risultati di questi studi è indispensabile per la conoscenza e la prevenzione delle zoonosi trasmesse da zecche, problemi emergenti per la salute pubblica in un areale geografico molto ampio.

Questa ricerca è stata condotta con l' autorizzazione dell' Illinois Department of Conservation (Scientific Permit No. W9292), ed era parte dei requisiti per il diploma di Master of Science in Veterinary Medical Sciences presso la University of Illinois at Urbana-Champaign.

Si ringrazia la Commissione per gli scambi culturali fra l'Italia e gli Stati Uniti per la borsa di studio concessa per l'anno 1990-'91.

ABSTRACT

The ecosystem dynamics of the deer tick *Ixodes dammini* was studied in Castle Rock State Park in northwestern Illinois during May-October 1991. Environmental factors such as geomorphological features, soil type, vegetation type, and host population composition and abundance influenced tick bionomics. The infestation of 11 mammal and one bird species by immature *I. dammini* was studied in different habitat types within the park. A major role of the eastern chipmunk (*Tamias striatus*) as a host for immature *I. dammini* in upland forest habitat was established. Mean larval density peaked in August, while nymphal density declined steadily through the study period. Prevalence of tick infestation was high throughout the trapping period. Levels of *I. dammini* infestation recorded on chipmunks in this survey were higher than previously recorded in the northeastern and midwestern United States, with significantly higher levels of nymphal *I. dammini* on chipmunks than were on white-footed mice (*Peromyscus leucopus*). *Borrelia burgdorferi* reservoir potential was higher for chipmunks than for mice in upland forest habitat. In bottomland and ecotone habitats where chipmunks were scarce, mice contributed most to the feeding of larval ticks and had a higher reservoir potential estimate.

High prevalence of immature *I. dammini* infestation of five species of medium-sized mammals and blue jays (*Cyanocitta cristata*) was found. Raccoons (*Procyon lotor*) and opossums (*Didelphis virginiana*) were infested with the highest larval densities and were trapped primarily in bottomland forest and ecotone habitats. All species had similar nymphal densities, except *P. leucopus* and the eastern cottontail (*Sylvilagus floridanus*) which were infested with fewer nymphs. *I. dammini* infestation of fox squirrels (*Sciurus niger*) is identified for the first time, and infestation of blue jays reported for the first time in the midwestern United States. These two species were hosts for nymphs in upland forest habitat.

Molting rates varied among ticks which fed on different host species and among larvae which fed on individuals of the same species. Molting rate is proposed as an important factor in determining the relative importance of a host species to *I. dammini* population dynamics.

The effect of habitat type on the infestation of the white-footed mouse by immature *I. dammini* was studied taking into account the weather pattern of summer 1991. Dry and hot weather conditions led to low mouse population density in dry upland forest habitat, whereas mouse population was not affected in humid bottomland forest habitat. Mean larval density peaked in July and remained high through August. Nymphal infestation rate was higher in June. Levels of immature ticks infestation did not differ significantly among habitats, and a higher number of ticks fed on mice in bottomland. Hence, an interactive effect of habitat and weather on *I. dammini* life cycle occurred.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Anderson J.F. 1988. Mammalian and avian reservoirs for *Borrelia burgdorferi*. In: Lyme disease and related disorders. Ann. N. Y. Acad. Sci., 539: 180-191.
- 2) Anderson J.F. & L.A. Magnarelli. 1980. Vertebrate host relationships and distribution of ixodid ticks (Acari: Ixodidae) in Connecticut, USA. J. Med. Entomol. 17: 314-323.
- 3) Anderson J.F. & L.A. Magnarelli. 1984. Avian and mammalian hosts for spirochete-infected ticks and insects in a Lyme disease focus in Connecticut. Yale J. Biol. Med. 57: 627-641.
- 4) Battaly G.R., D. Fish & R.C. Dowler. 1987. The seasonal occurrence of *Ixodes dammini* and *Ixodes dentatus* (Acari: Ixodidae) on birds in a Lyme disease endemic area of southern New York State. J. N. Y. Entomol. Soc. 95: 461-468.

- 5) **Bouseman J.K., U. Kitron, C.E. Kirkpatrick, J. Siegel & R.S. Todd, Jr.** 1990. The status of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) in Illinois. *J. Med. Entomol.* 27: 556-560.
- 6) **Cohen J. & P. Cohen.** 1983. Applied multiple regression/correlation analysis for the behavioral sciences. 2nd ed. Erlbaum, Hillsdale, NJ.
- 7) **Davis J.P., W.L. Schell, T.E. Amundson, M.S. Godsey, Jr., A. Spielman, W. Burgdorfer, A.G. Barbour, M. La Venture & R.A. Kaslow.** 1984. Lyme disease in Wisconsin: epidemiologic, clinical, serologic and entomologic findings. *Yale J. Biol. Med.* 57: 685-696.
- 8) **Drew M.L., K. Loken, R.F. Bey & R.D. Swiggum.** 1988. *Ixodes dammini*: occurrence and prevalence of infection with *Borrelia spp.* in Minnesota. *J. Wildl. Dis.* 24: 708-710.
- 9) **Fish D. & T.J. Daniel,** 1990. The role of medium-sized mammals as reservoirs of *Borrelia burgdorferi* in southern New York. *J. Wildl. Dis.* 26: 339-345.
- 10) **Ginsberg H.S. & C.P. Ewing.** 1989. Habitat distribution of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) and Lyme disease spirochetes on Fire Island, New York. *J. Med. Entomol.* 26: 183-189.
- 11) **Godsey M.S., Jr., T.E. Amundson, E.C. Burgess, W. Schell, J.P. Davis, R. Kaslow & R. Edelman.** 1987. Lyme disease ecology in Wisconsin: distribution and host preferences of *Ixodes dammini*, and prevalence of antibody to *Borrelia burgdorferi* in small mammals. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 37: 180-187.
- 12) **Kahl O.** 1991. Lyme borreliosis-an ecological perspective of a tick-borne human disease. *Anz. Shadlingskde., Pflanzenschutz, Umweltschutz* 64: 45-55.
- 13) **Kitron U. & A. Mannelli.** 1994. Modeling the Ecological Dynamics of Tick-Borne Zoonoses. In: *Ecological Dynamics of Tick-Borne Zoonoses* (Editors: T.N. Mather & D.E. Sonenshine). Oxford University Press.
- 14) **Kitron U., C.J. Jones & J.K. Bouseman.** 1991. Spatial and temporal dispersion of immature *Ixodes dammini* on *Peromyscus leucopus* in northwestern Illinois. *J. Parasitol.* 77: 945-949.
- 15) **Lane R.S., J. Piesman, & W. Burgdorfer.** 1991. Lyme borreliosis: relations to its causative agent to its vectors and hosts in North America and Europe. *Annu. Rev. Entomol.* 36: 587-609.
- 16) **Mannelli A., U. Kitron, C.J. Jones, & T.L. Slajchert.** 1993. Role of the eastern chipmunk as a host for immature *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) in northwestern Illinois. *J. Med. Entomol.* 30: 87-93.
- 17) **Mannelli A., U. Kitron C.J., Jones & T.L. Slajchert.** 1993b. *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) infestation on medium-sized mammals and blue jays in northwestern Illinois. *J. Med. Entomol.* 30: 950-952.
- 18) **Mather T.N., M.L. Wilson, S.I. Moore, J.M. Ribeiro, A. Spielman.** 1989. Comparing the relative potential of rodents as reservoirs of the Lyme disease spirochete (*Borrelia burgdorferi*). *Am. J. Epidemiol.* 130: 143-150.
- 19) **Needham G.R. and P.D. Teel.** 1991. Off-host physiological ecology of ixodid ticks. *Annu. Rev. Entomol.* 36: 659-681.
- 20) **Nelson J.A., J.K. Bouseman, U.D. Ritron, S.N. Callister, B. Harrison, M.J. Bankowsky, M.E. Peeples, B.J. Newton, G.M. Trenholme & J.F. Anderson.** 1991. Isolation and characterization of *Borrelia burgdorferi* from Illinois *Ixodes dammini*. *J. Clin. Microbiol.* 29: 1732-1734.
- 21) **Nosek J.** 1978. The effect of microclimate on *Ixodes ricinus*. In *Weather and parasitic animal diseases*, T. E. Gibson (ed). World Meteorological Organization, Geneva, Switzerland, p. 105-116.

- 22) **Olivier J.H., Jr M.R. Owsley, H.J. Hutcheson, A.M. James, C. Chen, W.S. Irby, E.M. Dotson & D.K. McLain.** 1993. Conspicificity of the ticks *Ixodes scapularis* and *I. dammini* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.* 30: 54-63.
- 23) **SAS Institute.** 1990. SAS/STAT User's guide, version 6, 4th ed. SAS Institute. Cary, USA.
- 24) **Sexton O.J., J.F. Douglass, R.R. Bloye, & A. Pesce.** 1982. Thirteen-fold change in population size of *Peromyscus leucopus*. *Can. J. Zool.* 60: 2224-2225.
- 25) **Spielman A., M.L. Wilson, J.F. Levine & J. Piesman.** 1985. Ecology of *Ixodes dammini*-borne human babesiosis and Lyme disease. *Annu. Rev. Entomol.* 30: 439-460.
- 26) **Stafford K.C. III and Louis Magnarelli.** 1993. Spatial and temporal patterns of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in southeastern Connecticut. *J. Med. Entomol.* 30: 762-771.
- 27) **Steer A.C. & S.E. Malawista.** 1979. Cases of Lyme disease in the United States: locations correlated with distribution of *Ixodes dammini*. *Ann. Intern. Med.* 91: 730-733.
- 28) **Weisbrod A.R. & R.C. Johnson.** 1989. Lyme disease and migrating birds in the Saint Croix River Valley. *Appl. Envir. Microbiol.* 55: 1921-1924.
- 29) **Wilson M.L. & A. Spielman,** 1985. Seasonal activity of immature *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.* 22:408-414.
- 30) **Yuval B. and A. Spielman.** 1990. Duration and regulation of the developmental cycle of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.* 27: 196-201.

ALTERAZIONI ISTOPATOLOGICHE A CARICO DELL'IPPOCAMPO IN RATTI TRATTATI CON DENDROTOSSINA- α

CALÒ M., MACRÌ B., *IANNONE M., *PALMA E. & *NISTICÒ G.

Istituto di Patologia Generale e Anatomia Patologica Veterinaria

Facoltà di Medicina Veterinaria - MESSINA

* Dipartimento di Biologia "Tor Vergata" - ROMA

La Dendrotossina- α (Dtx- α) è un polipeptide del peso molecolare di 7.000 Da estratto dal veleno del serpente *Dendroaspis Angusticeps* (Dolly, 1991). La microinfusione di basse dosi di questa tossina per via intracerebrale produce, nel ratto, effetti epilettogeni che possono durare per diversi giorni (Bagetta *et al.*, 1992).

Studi di elettrofisiologia eseguiti su singole cellule nervose hanno dimostrato che la Dtx- α è un inibitore dei canali del potassio voltaggio-dipendenti. Questo meccanismo, unitamente all'effetto facilitante il rilascio dei neurotrasmettitori, sarebbe alla base della potente azione convulsionante della Dtx- α (Silveira *et al.*, 1988). E' stato inoltre recentemente dimostrato come tale tossina, microinfusa nell'ippocampo dorsale del ratto sia in grado di determinare crisi simil-epiletiche che originano a livello ippocampale e si propagano a livello della corteccia cerebrale (Bagetta *et al.*, 1992).

Scopo del presente lavoro è stato quello di caratterizzare meglio gli eventuali effetti neuropatologici della microinfusione di Dtx- α sia a livello intracerebroventricolare che dell'area CA1 dell'ippocampo dorsale nel ratto.

MATERIALI E METODI

Per il presente studio sono stati utilizzati ratti adulti Wistar (250-300 g). Gli animali sono stati impiantati con una cannula guida a livello dell'area CA1 dell'ippocampo o del terzo ventricolo cerebrale. A tale scopo gli animali sono stati anestetizzati con cloralio idrato (400 mg/kg; i.p.) e posizionati in un apparecchio stereotassico (D. Kopf Instr.). Le aree di interesse sono state raggiunte mediante l'uso di coordinate ricavate dall'atlante stereotassico di Paxinos and Watson (1982).

Dopo 48 ore dal termine delle procedure chirurgiche gli animali sono stati

posti individualmente in gabbie di plexiglass per circa trenta minuti e, successivamente, hanno ricevuto la microinfusione di soluzione fisiologica o di Dtx- α (35 pmol). La somministrazione intracerebrale è stata effettuata attraverso una microcannula posizionata in modo da sporgere di 1 mm oltre l'estremità ventrale della cannula guida e collegato, attraverso un tubo di polietilene, ad una siringa Hamilton. Tutti gli animali hanno ricevuto lo stesso volume (1 μ l) di solvente o di Dtx- α .

Una settimana dopo la somministrazione gli animali sono stati nuovamente anestetizzati e perfusi, attraverso l'aorta ascendente con soluzione fisiologica (100 ml; 0.9% NaCl) seguita da 400 ml di formalina 10% tamponata (pH 7.4). I cervelli sono quindi stati processati con le normali tecniche istologiche; le sezioni coronali (10 μ m di spessore) sono state quindi colorate con il metodo di Nissl (Cresil Violetto) e con la procedura istochimica per l'acetilcolinesterasi.

L'analisi morfometrica per la conta cellulare e la misurazione degli assoni è stata eseguita mediante un analizzatore computerizzato di immagini (Mod. IBAS 2000).

RISULTATI E CONCLUSIONI

La somministrazione di Dtx- α a livello dell'area CA1 dell'ippocampo ha determinato una significativa diminuzione del numero delle cellule neuronali sia a livello del sito di iniezione che delle aree CA3 e CA4 ippocampali. La neurotossicità della Dtx- α è dovuta, probabilmente, al blocco dei canali del potassio.

Al contrario, la somministrazione di Dtx- α a livello del terzo ventricolo cerebrale non ha dato luogo ad alcun effetto neuropatologico. Tuttavia, è stato possibile mettere in evidenza, al contrario, un significativo aumento del numero di fibre colinergiche a livello ippocampale.

Ulteriori indagini sperimentali sono necessarie allo scopo di caratterizzare meglio il meccanismo alla base delle variazioni morfologiche descritte.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Bargetta G., Nisticò G. & Dolly J.O. (1992) *Neurosci. Lett.* 139:34-40.
- 2) Dolly J.O. (1991) in: *Handbook of Experimental Pharmacology*, Springer, Berlin.
- 3) Paxinos G. & Watson C. (1982) *The rat brain in stereotaxic coordinates*, Academic press, London.
- 4) Silveira R., Siciliano J., Albo V., Viera L. & Dajas F. (1988) *Toxicol* 26: 1009-1015.