

SPIAGGIAMENTO ANOMALO DI CETACEI LUNGO LE COSTE TIRRENICHE - ANNO 2013

RAPPORTO DELLA RIUNIONE DEL 25-26 MARZO 2013,
TORINO

RAPPORTO DELLA RIUNIONE DEL 25-26 MARZO 2013

SPIAGGIAMENTO CETACEI LUNGO LE COSTE TIRRENICHE

Si rendono note le conclusioni della riunione in oggetto tenutasi il 25-26 Marzo 2013 presso la sede di Torino dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale (IZS) del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta alla quale hanno partecipato funzionari rappresentanti di:

- IZS Piemonte Liguria e Valle d'Aosta (C. Casalone, W. Mignone, A. Pautasso, M. Goria, B. Iulini, M. Pintore, K. Varello, A. Romano, D. Francese, S. Peletto);
- IZS del Mezzogiorno (F. Di Nocera, B. Degli Uberti);
- IZS Sicilia (G. Loria, R. Puleio, A. Guercio);
- IZS Toscana e Lazio (F. Scholl, C. Cocumelli, C. Eleni, G. Terracciano);
- IZS Lombardia e Emilia Romagna (S. Rubini);
- IZS delle Venezie (F. Pascoli);
- IZS Umbria e Marche (E. Roccheggiani);
- IZS Sardegna (C. Ligios);
- IZS Abruzzo e Molise (G. Di Francesco);
- IZS Puglia e Basilicata (A. Petrella);
- Cetaceans Emergency Response Team (C.E.R.T.), Unità nazionale di Intervento Spiaggiamenti straordinari presso l'Università di Padova (S. Mazzariol, C. Centelleghes)

L'ordine del giorno della riunione prevedeva:

1. La valutazione, il confronto, l'armonizzazione dei risultati delle indagini diagnostiche finora concluse e la formulazione di prime ipotesi sulle possibili cause della moria.
2. La predisposizione di un report per il Ministero della Salute e il Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare.

INTRODUZIONE

Dal 04 Gennaio al 25 marzo 2013 le coste tirreniche delle Regioni Toscana, Lazio, Campania, Calabria, Sicilia e Sardegna sono state interessate da spiaggiamenti di cetacei del tutto insoliti rispetto a quelli registrati, nel medesimo tratto di costa, durante gli anni precedenti. Questi episodi vengono definiti come evento di mortalità anomalo (Unusual Mortality Event).

Le segnalazioni inviate alla Banca Dati Spiaggiamenti dell'Università di Pavia, che effettua la raccolta sistematica di informazioni sugli spiaggiamenti di mammiferi marini, riportano 114 cetacei spiaggiati di cui 89 stenelle striate, 6 tursiopi, 1 balenottera comune, 1 globicefalo, 3 grampi e 14 non determinati. Di seguito è rappresentata la distribuzione geografica degli spiaggiamenti (Figura n. 1), il dettaglio delle specie coinvolte e delle Regioni interessate (Tabella n. 1) e l'andamento temporale degli spiaggiamenti (Grafico n.1)



Figura n. 1: Distribuzione geografica degli spiaggiamenti dal 04 Gennaio al 25 Marzo 2013

Regioni	Stenella Striata	Tursiope	Globicefalo	Grampo	Balenottera Comune	Non identificato	Totale
Toscana	19	2	0	0	1	5	27
Lazio	26	0	0	0	0	3	29
Campania	10	0	0	0	0	3	13
Calabria	13	0	0	1	0	0	14
Sicilia	14	2	0	0	0	2	18
Sardegna	7	2	1	2	0	1	13
Totale	89	6	1	3	1	14	114

Tabella n. 1: Regioni e specie animali coinvolte negli spiaggiamenti dal 04 Gennaio al 25 Marzo 2013

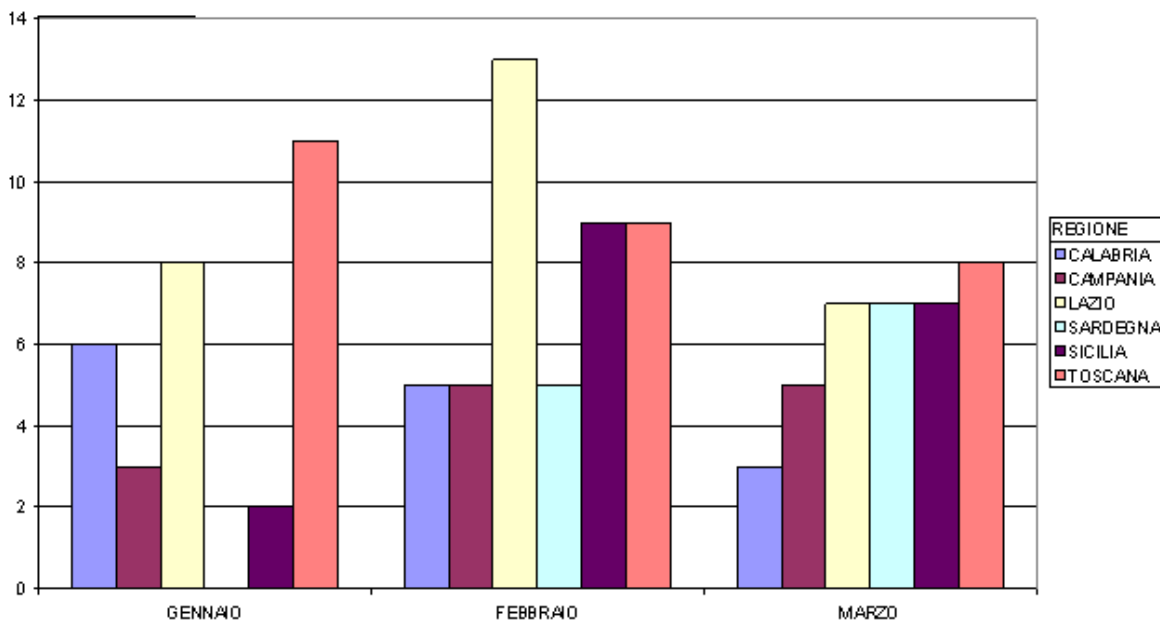


Grafico n.1: Distribuzione temporale degli spiaggiamenti, suddivisa per regione

Per la prima volta in Italia, grazie alla Rete Nazionale Spiaggiamenti nata dalla collaborazione tra Ministero dell’Ambiente, della Tutela del Territorio e del Mare e Ministero della Salute è stato possibile gestire l’emergenza con coordinazione e sinergismo fra gli Enti preposti, in modo tale da ottenere la completa tracciabilità delle segnalazioni, dei campionamenti, degli esami svolti e dei risultati ottenuti.

La proficua cooperazione fra le diverse competenze tecnico-scientifiche ha visto coinvolti: i Servizi Veterinari delle ASL, gli Istituti Zooprofilattici Sperimentali (IIZZSS), le ARPA , le Università di Padova, Pavia, Teramo, Siena, Pisa, il Museo di Storia Naturale

di Milano, le Capitanerie di Porto e il Corpo Forestale dello Stato. Gli IZZSS competenti per territorio sono intervenuti per l'esecuzione della necropsia e il successivo campionamento di organi e tessuti da sottoporre alle indagini diagnostiche di laboratorio. Dal 2011 infatti, grazie a un progetto di ricerca corrente finanziato dal Ministero della Salute, gli IZZSS hanno creato una rete di sorveglianza diagnostica *post mortem*, coordinata dall'IZS Piemonte Liguria e Valle d'Aosta (IZS PLVA), al fine intervenire in modo armonico e capillare sui cetacei spiaggiati a livello nazionale, applicando protocolli operativi uniformi e condividendo i risultati delle indagini di laboratorio (Figura n. 2).

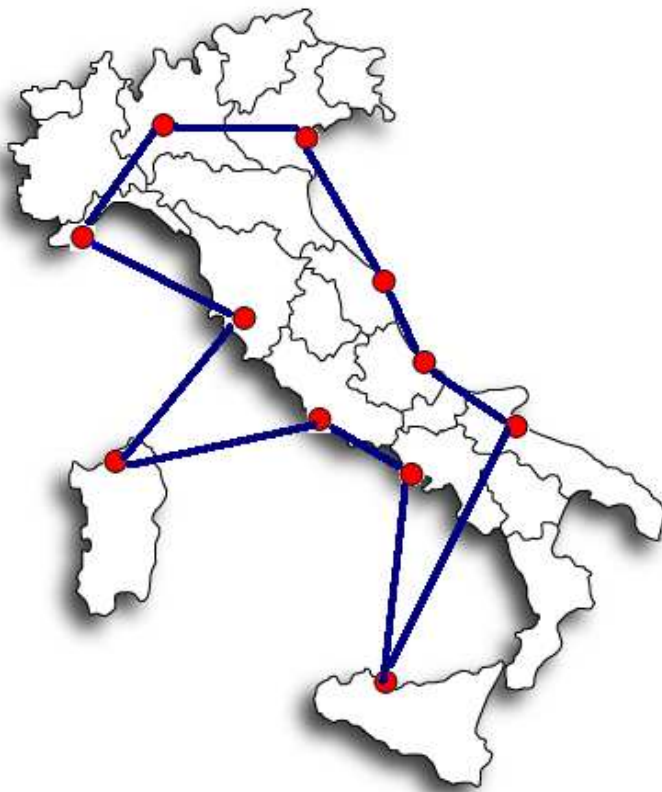


Figura n. 2. Rete degli IZZSS
PROTOCOLLO DIAGNOSTICO

In occasione degli spiaggiamenti del 2013 sono intervenuti:

1. IZS Toscana e Lazio (referenti Dr.ssa Giuliana Terracciano e Dr. Francesco Scholl) per l'esecuzione dell'esame necroscopico e delle indagini di laboratorio sui cetacei spiaggiati lungo le coste della Toscana e del Lazio
2. IZS del Mezzogiorno (referente Dr.ssa Esterina De Carlo) per l'esecuzione dell'esame necroscopico e delle indagini di laboratorio sui cetacei spiaggiati lungo le coste della Campania e Calabria

3. IZS della Sardegna (referente Dr. Antonio Pintore) per l'esecuzione dell'esame necroscopico e delle indagini di laboratorio sui cetacei spiaggiati lungo le coste della Sardegna
4. IZS della Sicilia (referente Dr. Santo Caracappa) per l'esecuzione dell'esame necroscopico e delle indagini di laboratorio sui cetacei spiaggiati lungo le coste della Sicilia
5. IZS Piemonte Liguria e Valle d'Aosta (referente Dr.ssa Cristina Casalone) - per l'esecuzione degli esami neuropatologici, istologici, immunoistochimici, colturali e biomolecolari (per *Morbillivirus*, *Toxoplasma gondii* e *Photobacterium damsela*) su alcuni campioni inviati dagli altri IIZZSS, come dettagliato in Tabella n. 2.

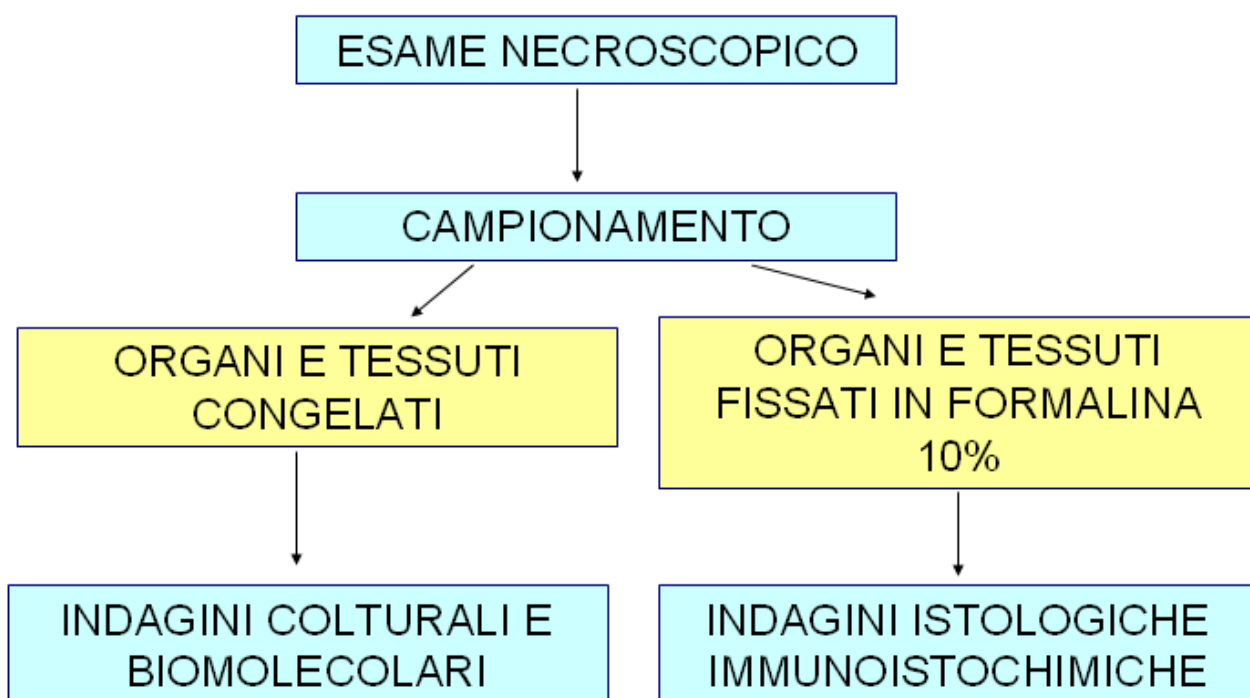
Ha inoltre provveduto alla raccolta ed elaborazione di tutti i risultati ottenuti dalle indagini diagnostiche svolte dagli IIZZSS.

ID	ESAME NEUROPAT	MORBILLI VIRUS		TOXOPLASMA GONDII		PHOTOBACTERIUM DAMSELAE	
		PCR	IHC	PCR	IHC	COLTURALE	PCR
9138	X	X		X			
9434	X	X		X			
10411	X	X	X	X			
10451		X		X			
11400		X		X			
12658	X	X		X			
12856	X	X	X	X			
13636	X	X		X	X		
15043	X	X		X	X		
17291	X	X		X			
21358	X	X	X	X			
10414	X	X	X	X	X		
7777	X	X	X	X			
17292	X	X	X	X			
31902	X	X		X			
8346		X		X			
11338		X		X			
16107		X		X			
21874		X		X			
22603		X		X			
12804		X				X	X
12818		X				X	X
16818		X				X	X
23053		X				X	X
23544		X				X	X

Tabella n. 2. Indagini eseguite dall'IZS PLVA su campioni inviati dall'IZS Sicilia (in giallo), IZS Mezzogiorno (in verde), IZS Sardegna (in viola)

Il protocollo diagnostico applicato ai cetacei spiaggiati viene riportato di seguito:

- Compilazione della Scheda della Banca Dati Spiaggiamenti, istituita presso il Centro Interdisciplinare di Bioacustica e Ricerche Ambientali (CIBRA) dell'Università degli Studi di Pavia, al fine di raccogliere in maniera sistematica le informazioni anamnestiche.
- Esecuzione della necropsia e campionamento di organi e tessuti in parte sottoposti a congelamento per l'esecuzione di indagini colturali e biomolecolari e in parte fissati in formalina al 10% per gli esami istologici e immunoistochimici.



- Invio alla Banca Tessuti di Padova di campioni di sangue, organi e tessuti congelati e in formalina.
- Compilazione della Scheda del Registro Dati Diagnostici (Re.Da.Ce), istituita presso l'IZS del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, al fine di raccogliere i risultati dell'esame necroscopico e delle analisi di laboratorio eseguite sui campioni prelevati.

RISULTATI

Gli IZZSS territorialmente competenti sono intervenuti per effettuare le indagini *post-mortem* su un totale di 66 soggetti, come dettagliato in Tabella n. 3

	Stenella Striata	Tursiope	Globicefalo	Balenottera comune	Totale
IZS Toscana Lazio	34	1	0	1	36
IZS Mezzogiorno	12	0	0	0	12
IZS Sardegna	5	2	1	0	8
IZS Sicilia	9	1	0	0	10
Totale	60	4	1	1	66

Tabella n. 3: numero di interventi degli IZZSS e specie animali coinvolte

1. Stato di conservazione

La maggior parte delle carcasse (66,67%) erano contraddistinte da un cattivo stato di conservazione, caratterizzate da un grado 3 (moderata decomposizione) ad un grado 5 (mummificato e/o fortemente decomposto), come dettagliata in Tabella n.4 - dati disponibili su 63 soggetti.

STATO DI CONSERVAZIONE

	1	2	2/3	3	4	5	TOT
IZS Toscana Lazio	2	7	2	18	6	1	36
IZS Mezzogiorno	0	6	0	5	1	0	12
IZS Sardegna	1	0	0	4	1	2	8
IZS Sicilia	1	2	0	4	0	0	7
TOT	4	15	2	31	8	3	63
	% 6,35%	23,81%	3,17%	49,21%	12,70%	4,76%	

Tabella n. 4: Stato di conservazione degli animali sottoposti ad indagini *post mortem*

2. Contenuto dello stomaco

Durante gli interventi è stato possibile esaminare lo stomaco di 45 animali e valutarne il contenuto. La Tabella n. 5 riassume e quantifica quanto è stato trovato negli stomaci di questi individui. Nella maggior parte dei casi esaminati (69%) le concamerazioni gastriche erano vuote. Negli animali con stomaco pieno, tra il materiale rinvenuto

accanto ai reperti alimentari (pesci, cefalopodi) e ai corpi estranei (canne di bambù), si sono reperiti anche elementi parassitari, in particolare *Anisakis* spp. e *Pholeter gastrophilus*.

CONTENUTO STOMACALE

	Pieno	Vuoto	TOT
IZS Toscana Lazio	11	18	29
IZS Mezzogiorno	0	12	12
IZS Sardegna	3	0	3
IZS Sicilia	0	1	1
TOT	14	31	45
	% 31,11%	68,89%	

Tabella n. 5: Contenuto stomacale degli animali sottoposti ad indagini *post mortem*

3. Risultati esami di laboratorio

Sui cetacei spiaggiati è stato possibile eseguire esami microbiologici, virologici e sierologici dei principali patogeni conosciuti nei cetacei, in particolare Morbillivirus, Herpesvirus, *Brucella* spp. e *Toxoplasma gondii*.

- ✓ Le indagini virologiche per la ricerca di Morbillivirus tramite RT PCR sono state eseguite su 53 soggetti. I risultati sono riassunti in Tabella n. 6. Sull' RNA estratto da campioni positivi per Morbillivirus di 7 soggetti è stato eseguito il sequenziamento. Le sequenze ottenute sono state allineate mediante BioEdit ed è stata eseguita l'analisi filogenetica con il software MEGA5. In allegato si trasmettono i dettagli della procedura e dei risultati ottenuti.

PCR MORBILLIVIRUS

	POSITIVI	NEGATIVI	DUBBI	in fase di conferma	TOT
IZS Lazio Toscana	10	16	2	0	28
IZS Mezzogiorno	6	4	0	0	10
IZS Sardegna	0	5	0	0	5
IZS Sicilia	0	4	0	6	10
TOT	16	29	2	6	53
%	30,19%	54,72%	3,77%	11,32%	

Tabella n.6: Risultati delle indagini virologiche per la ricerca di Morbillivirus

- ✓ La maggior parte delle indagini virologiche per la ricerca di Herpesvirus sono state eseguite dall'IZS Lazio e Toscana su campioni di competenza territoriale. I risultati sono riassunti in Tabella n. 7.

PCR HERPESVIRUS

	POSITIVI	NEGATIVI	TOT
IZS Toscana Lazio	6	15	21
IZS Mezzogiorno	0	1	1
TOT	6	16	22
%	27,27%	72,73%	

Tabella n. 7: Risultati delle indagini virologiche per la ricerca di Herpesvirus

- ✓ Tra i batteri riscontrati all'esame microbiologico emerge *Photobacterium damsela*, isolato nel 60 % dei casi, come dettagliato in Tabella n. 8. Sono state inoltre eseguite indagini biomolecolari, tramite PCR, al fine di differenziare la subspecie *damsela*, responsabile di sindromi emolitiche ed emorragiche.

COLTURALE PHOTOBACTERIUM DAMSELAE

	POSITIVI	NEGATIVI	TOT
IZS Lazio Toscana	21	10	31
IZS Mezzogiorno	3	1	4
IZS Sardegna	3	2	5
IZS Sicilia	4	6	10
TOT	31	19	50
%	62,00%	38,00%	

Tabella n.8: Risultati dell'esame colturale per la ricerca di *Photobacterium damsela*

- ✓ Per quanto riguarda le indagini parassitologiche è stata eseguita PCR per la ricerca di *Toxoplasma gondii* in 52 soggetti, 5 dei quali (9,62 %), spiaggiati in Sardegna e Toscana, sono risultati positivi come dettagliato in tabella n°9

TOXOPLASMA PCR

	POSITIVI	NEGATIVI	TOT
IZS Lazio Toscana	1	26	27
IZS Mezzogiorno	0	10	10
IZS Sardegna	4	1	5
IZS Sicilia	0	10	10
TOT	5	47	52
%	9,62%	90,38%	

Tabella n. 9: Risultati delle indagini parassitologiche per la ricerca di *Toxoplasma gondii*

- ✓ È stata valutata la presenza di *Brucella* spp. in 43 soggetti, tutti risultati negativi.

Viene riportata di seguito una descrizione degli spiaggiamenti su cui è intervenuto ciascun IZS, in riferimento ai patogeni e alle lesioni istologiche riscontrate. Si specifica che il termine “non disponibile” fa riferimento sia ad analisi in corso sia a campioni sui quali non sono state effettuate le indagini di laboratorio. In allegato si trasmettono le schede riassuntive compilate dagli IZZSS con il dettaglio di ogni singolo soggetto.

IZS TOSCANA E LAZIO

L'IZS Lazio e Toscana è intervenuto su 36 casi. Le indagini virologiche per la ricerca di Morbillivirus sono state eseguite su 28 animali, dei quali 10 sono risultati positivi, il cui grado di conservazione è dettagliato nel Grafico n. 2.

- ✓ In 3 casi è stata evidenziata positività in PCR solo al Morbillivirus: 2 a livello di SNC e 1 a livello di polmone. In questi 3 casi non era disponibile l'istologico per cui non è stato possibile valutare la presenza di lesioni concomitanti.
- ✓ In 3 casi è stata riscontrata la presenza di Morbillivirus e *Photobacterium damsela*. Due casi sono risultati positivi ad entrambi i patogeni a livello del SNC, ma su un solo soggetto è stato effettuato l'esame neuropatologico che ha evidenziato demielinizzazione, neuronofagia e satellitosi. Nell'altro caso il Morbillivirus è stato rilevato solo da tampone dello sfintatoio, mentre il *Photobacterium damsela* dal fegato che presentava epatite periportale e dall' SNC con vasculite.
- ✓ In 1 caso è stata riscontrata la presenza di Morbillivirus (SNC) e Herpesvirus (Polmone): l'esame istologico era disponibile solo sul polmone, che presentava una polmonite parassitaria.
- ✓ In 3 casi è stata riscontrata la presenza di Morbillivirus, Herpesvirus e *Photobacterium damsela*. Solo in un caso erano disponibili gli istologici: l'SNC (positivo per Morbillivirus) ha evidenziato la presenza di manicotti perivascolari, gliosi e degenerazione della corteccia frontale; la milza (positiva per *Photobacterium damsela*) una perisplenite linfoplasmacellulare.

Un caso è risultato positivo solo per Herpesvirus a livello di milza, ma gli istologici non erano disponibili. Un caso è risultato positivo per *Toxoplasma gondii* a livello di SNC di cui non era disponibile l'istologico per cui non è stato possibile valutare la presenza di lesioni concomitanti.

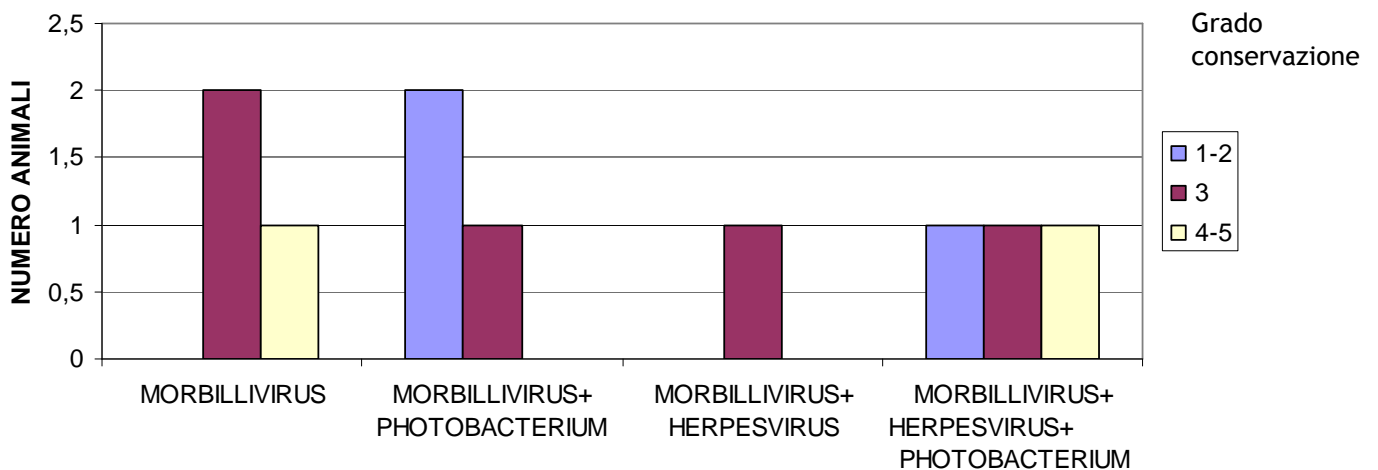


Grafico n. 2: Grado di conservazione degli animali risultati positivi per Morbillivirus

Non è stata riscontrata la presenza di *Brucella* spp.

In molti animali sono stati riscontrati parassiti: i più frequenti erano *Phoeleter gastrophilus*, *Monorygma grimaldi* e *Phyllobotrium* spp.

IZS MEZZOGIORNO

L'IZS del Mezzogiorno è intervenuto su 12 casi. Le indagini virologiche per la ricerca di Morbillivirus sono state eseguite su 10 animali, dei quali 6 sono risultati positivi, tutti con un grado di conservazione da 2 a 3.

- ✓ In 3 casi è stata evidenziata positività in PCR solo al Morbillivirus: in un caso a livello della milza che presentava iperplasia linfoide, negli altri 2 casi a livello di SNC. All'esame istologico è stato evidenziato in un caso encefalomalacia, degenerazione neuronale presenza di eosinofili e di gitter cells; l'altro caso mostrava emorragie in ambito subaracnoideo, necrosi della corteccia, degenerazione neuronale e neuronofagia.
- ✓ In 3 casi è stata riscontrata la presenza di Morbillivirus e *Photobacterium damsela*. In un caso gli istologici non erano disponibili. Negli altri 2 casi la positività a Morbillivirus è stata riscontrata: in un soggetto a livello di polmone (con quadri di broncopolmonite) e nell'altro sia nell' SNC con un quadro caratterizzato da degenerazione dei neuroni, neuronofagia e presenza di gitter cells sia nel polmone che presentava una polmonite di tipo parassitario. Il *Photobacterium damsela* è stato ritrovato solo nel fegato con quadri di epatite linfocitaria.

I risultati per la ricerca di Herpesvirus non sono disponibili.

Non è stata riscontrata la presenza di *Toxoplasma gondii* e *Brucella* spp.

In molti animali sono stati riscontrati parassiti: i più frequenti erano *Pholeter gastrophilus* nello stomaco, *Phyllobotrium* a livello muscolare e nematodi polmonari.

IZS SARDEGNA

L'IZS della Sardegna è intervenuto su 8 casi. Su 5 animali sono state eseguite indagini virologiche per la ricerca di Morbillivirus, parassitologiche per la ricerca di *Toxoplasma gondii* e batteriologiche. Il grado di conservazione di questi animali, in rapporto alle positività riscontrate è dettagliato nel Grafico n. 3.

- ✓ RNA Morbillivirale non è stato rilevato in alcun campione.
- ✓ 4 casi sono risultati positivi per *Toxoplasma gondii* a livello di polmone (4/4), fegato (2/4) o SNC (1/4). In 2 casi è stata rilevata la contemporanea presenza di *Photobacterium damsela*. Non era disponibile l'istologico degli organi risultati positivi per cui non è stato possibile valutare la presenza di lesioni concomitanti.
- ✓ È stata infine evidenziata la sola presenza di *Photobacterium damsela* dal polmone di un soggetto con quadro istologico di polmonite interstiziale cronica con lieve infiltrato mononucleare, aspetti di alveolite desquamativa ed enfisema vicariante.

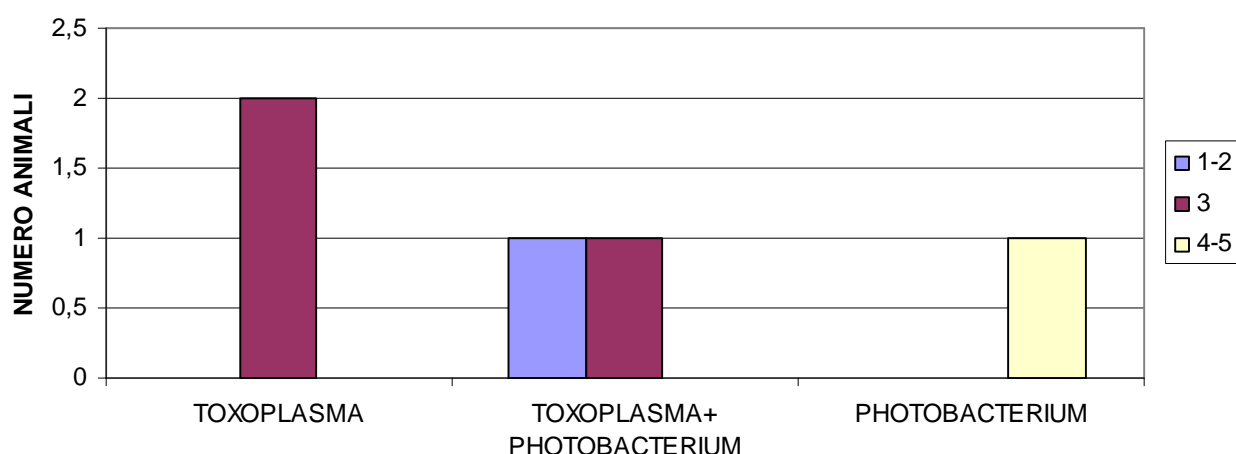


Grafico n. 3: Grado di conservazione degli animali risultati positivi per *Toxoplasma gondii* e *Photobacterium damsela*

I risultati per la ricerca di Herpesvirus non sono disponibili. Non è stata rilevata la presenza di *Brucella* spp in 2 soggetti analizzati.

Non sono disponibili informazioni sulla presenza di parassiti.

IZS SICILIA

L'IZS della Sicilia è intervenuto su 10 casi, tutti testati mediante PCR per la ricerca di Morbillivirus e *Toxoplasma gondii*.

- ✓ Non è stata riscontrata la presenza di *Toxoplasma gondii*.
- ✓ 6 animali sono risultati positivi alla PCR per Morbillivirus presso l'IZS PLVA, ma negativi presso l'IZS della Sicilia. Un campione è risultato positivo anche all'immunoistochimica eseguito presso l'IZS PLVA. Attualmente sono in corso analisi di conferma. Tutti questi soggetti avevano un grado di conservazione da 2 a 3. In 2 casi non era disponibile l'istologico (SNC e cute). In 3 casi la positività è stata riscontrata nel polmone e nel SNC, che apparivano istologicamente nella norma. Mentre in un caso sono risultati positivi numerosi organi (polmone, cuore, SNC, cute e diaframma): il polmone presentava foci di infiltrato mononucleato e presenza di macrofagi e polimorfonucleati all'interno del lume bronchiale ed alveolare, mentre gli altri organi erano autolitici o l'istologico non era disponibile.
- ✓ *Photobacterium damsela* è stato isolato da più organi in 4 soggetti. In particolare l'encefalo di uno di questi animali presentava un quadro istologico caratterizzato dalla presenza, nella sostanza grigia di tutte le aree encefaliche di manicotti perivascolari con cellule mononucleate, neovascolarizzazione, gliosi e neuronofagia. Nella sostanza bianca del cervelletto e nella corteccia parietale sono state evidenziate malacia, vasculite ed emorragie.

I risultati per la ricerca di Herpesvirus non sono disponibili.

Non è stata rilevata la presenza di *Brucella* spp. in nessun campione.

In quasi tutti i soggetti sono stati riscontrati parassiti: i più frequenti sono *Anisakis* spp. nello stomaco e nematodi polmonari. In 2 animali all'esame istopatologico è stata evidenziata la presenza di lesioni granulomatose compatibili con la presenza di *Anisakis* spp.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Gli IZZSS territorialmente competenti sono intervenuti per effettuare le indagini *post mortem* previste sul 58% dei soggetti spiaggiati, laddove le condizioni delle carcasse rinvenute lo consentivano.

In generale la maggior parte delle carcasse presentavano un cattivo stato di conservazione, lo stomaco vuoto ed un'alta carica parassitaria, indice di un quadro immunitario significativamente compromesso.

Gli esami di laboratorio eseguiti non hanno evidenziato la presenza di *Brucella* spp. Solo 5 soggetti su 52 testati (9,62%), spiaggiati in Sardegna e Toscana, sono risultati positivi per *Toxoplasma gondii*. La mancanza dell'esame istologico non ha consentito di valutare l'eventuale presenza delle lesioni e di cisti. L'Herpesvirus è stato riscontrato in 6 soggetti su 22 testati (27,7%) rinvenuti lungo le coste del Lazio e della Toscana, sempre in presenza di altri patogeni, quali Morbillivirus e *Photobacterium damsela* e/o parassiti. In 31 soggetti su 50 esaminati (62%) è stato isolato *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* responsabile di sindromi emolitiche ed emorragiche. In letteratura non sono evidenziati casi di epidemie e mortalità di massa legati a questo patogeno, pertanto viene considerato un opportunista e non una causa primaria di morte.

Dai risultati conseguiti è emerso che 16 delfini su 53 testati (30,19 %) sono risultati positivi per Morbillivirus. Sei animali sono in fase di conferma per cui la percentuale potrebbe arrivare al 41%. Sulla base delle indagini filogenetiche eseguite è emerso inoltre che le sequenze ottenute formano un cluster unico con le sequenze di Dolphin Morbillivirus (DMV) depositate in GenBank. Il Morbillivirus è un agente virale responsabile in passato di 2 gravi epidemie nel Mediterraneo (1990-1992 e 2006-2008) e di altri episodi analoghi nel resto del mondo. Si fa presente inoltre che nel 2011 è stata registrata un'ulteriore epidemia lungo le coste Valenziane (Spagna - comunicazione orale ECS Conference 2013). Il Morbillivirus è caratterizzato da un'elevata patogenicità per i cetacei ed è principalmente linfotropo e secondariamente epiteliotropo e neurotropo. Da oltre 20 anni circola nel Mar Mediterraneo e alla luce degli studi effettuati, attualmente viene considerato endemico con cicliche ricomparsa e conseguenti elevate mortalità, quando vi è una diminuzione della risposta anticorpale nella popolazione che diventa più suscettibile. Questo patogeno non ha bisogno di agenti

predisponenti, immunodeprime l'ospite e pertanto favorisce l'insorgenza di infezioni secondarie.

In letteratura è documentata la simultanea presenza di Morbillivirus ed Herpesvirus. Sembra che questa coinfezione si verifichi frequentemente tra le stenelle del Mediterraneo: gli animali coinvolti presentano generalmente lesioni correlate al Morbillivirus, ma non all' Herpesvirus. Questi dati suggeriscono che l'Herpesvirus non abbia un ruolo primario come causa di mortalità negli spiaggiamenti. (Bellier et al. 2010)

Dai risultati ottenuti da questo studio, nella maggior parte dei casi, sono stati evidenziati agli esami istologici quadri infiammatori aspecifici non suppurativi. L'IHC per Morbillivirus eseguita su alcuni casi risultati positivi in PCR ha dato esito positivo solo in un soggetto. Inoltre la presenza di RNA virale in assenza di lesioni significative non consente di affermare con certezza il ruolo del Morbillivirus come causa primaria di morte in questi soggetti, tuttavia la sua azione immunodeprimente può avere avuto un ruolo fondamentale nel determinare questa moria anomala.

Al fine di comprendere al meglio la natura di questo evento si rende necessario integrare questi dati con quelli relativi ai fattori meteo marini, agli studi di popolazione, ai dati morfometrici, ai contaminanti ambientali e ad eventuali altre cause di origine antropica.

RACCOMANDAZIONI

Al fine di uniformare ulteriormente le modalità di intervento diagnostico sui cetacei spiaggiati per poter avere dati omogenei da analizzare per studiare in maniera più approfondita questo fenomeno si ritiene opportuno:

- ✓ Standardizzare il set di campioni da prelevare e da sottoporre ad indagini di laboratorio
- ✓ Standardizzare i protocolli diagnostici per ciascun patogeno ricercato
- ✓ Eseguire di routine gli esami istologici sugli organi principali, compreso il tessuto linfoide
- ✓ Prelevare sistematicamente gli encefali ed eseguire l'esame neuropatologico
- ✓ Prelevare campioni di siero per la ricerca di anticorpi per Morbillivirus, *Brucella* spp. e *Toxoplasma gondii*
- ✓ In caso di positività a Morbillivirus estendere le indagini su diverse regioni informative del genoma di DMV

ALLEGATO 1

L'RNA è stato quantificato mediante lettura su nanofotometro Viva Spec LS (Sartorius) e 5 µl sono stati retrotrascritti in cDNA utilizzando il kit High Capacity cDNA Reverse Transcription kit (Life Technologies). La tabella sottostante riporta l'elenco dei campioni ed il risultato della quantificazione:

	ID Animale	Organo	ng/µl	Ratio 260/280
1	9138	polmone	128	1,87
2	9134	cuore	7	1,31
3	7777	polmone	31	1,86
4	10414	milza	4	1,22
5	10451	milza	1	nd
6	11400	encefalo	28	1,32
7	11400	polmone	24	2,14
8	11400	muscolo	4	1,00
9	11400	cuore	1	nd
10	11400	diaframma	13	0,97
11	21358	encefalo 2	23	1,06
12	21358	encefalo 3	6	1,5
13	21358	polmone	20	1,20

Il cDNA è stato utilizzato per l'amplificazione parziale dei geni N1, H ed F di Dolphin morbillivirus (DMV) secondo il protocollo pubblicato da Bellière et al. (2011).

In particolare sono state utilizzate le coppie di primer NgeneF/NgeneR (gene N1, posizione 849-874 e 1056-1078 del genoma di DMV), DMVFu-F/DMVFu-R (gene F, posizione 6483-6502 e 6655-6674) e CeMV-He1/CeMV-He2 (gene H, posizione 7194-7213 e 7407-7426).

Dato il tempo disponibile ad oggi sono state effettuate alcune prove, confrontando anche due Taq diverse (HotStarTaq, Qiagen e Platinum Taq, Life Tech) che hanno permesso l'amplificazione di quattro campioni, nel dettaglio:

21358 polmone -> gene N1

21358 encefalo 2 -> gene F

11400 muscolo -> gene H

10451 milza -> gene H

Gli ampliconi sono stati purificati mediante il kit Eurogold Cycle-Pure kit (Euroclone) e sottoposti a cycle-sequencing utilizzando il kit BigDye v. 3.1 (Life technologies). I prodotti marcati sono stati a loro volta purificati con l'uso del kit Illustra AutoSeq G-50 Dye Terminator Removal (GE Healthcare) e sottoposti a sequenziamento diretto utilizzando i primer di PCR ed un sequenziatore automatico ABI 3130 (Life Technologies).

Le sequenze ottenute sono state allineate mediante BioEdit e l'analisi filogenetica è stata eseguita con il software MEGA5 impostando il metodo neighbor-joining e il metodo Kimura-2 ed inserendo nell'analisi sequenze di riferimenti di DMV e di altre specie virali filogeneticamente vicine.

Gli alberi filogenetici ottenuti sono riportati sotto (▲ = campione in esame):

Fig. 1. Albero filogenetico costruito su un allineamento di 154 bp del gene N1 di DMV

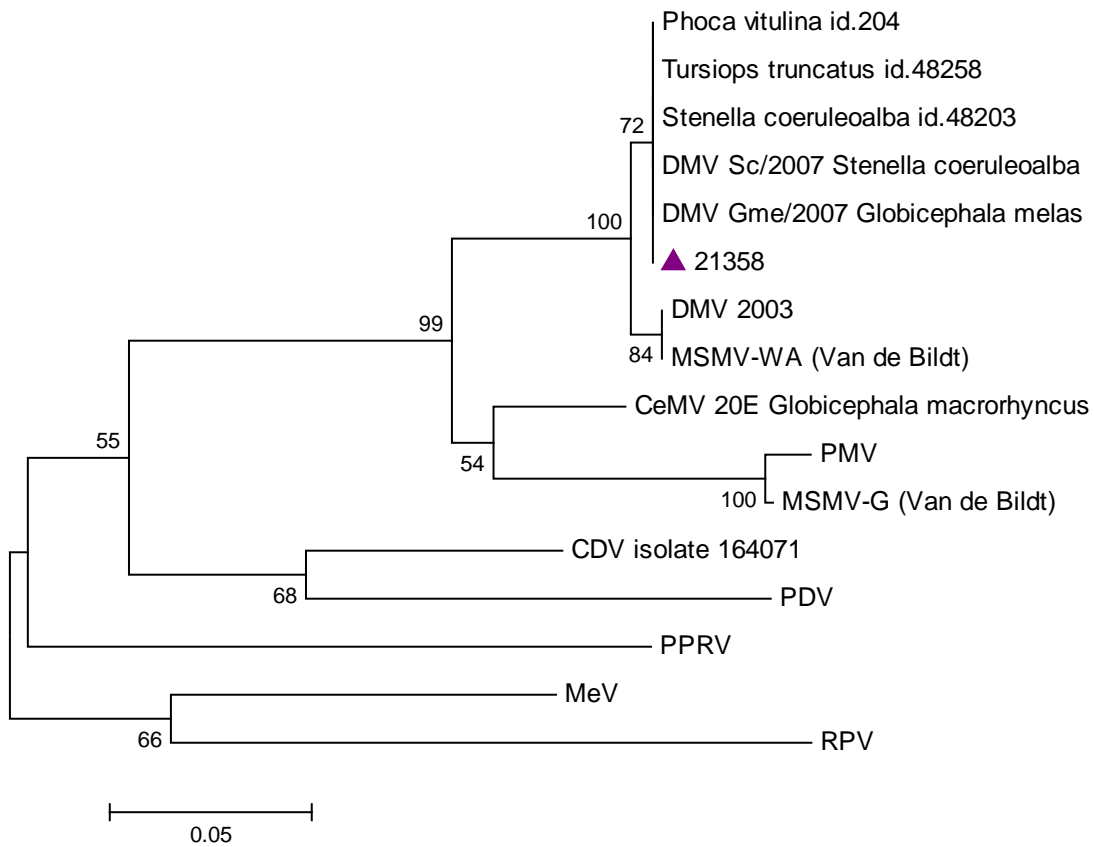


Fig. 2. Albero filogenetico costruito su un allineamento di 158 bp del gene F di DMV

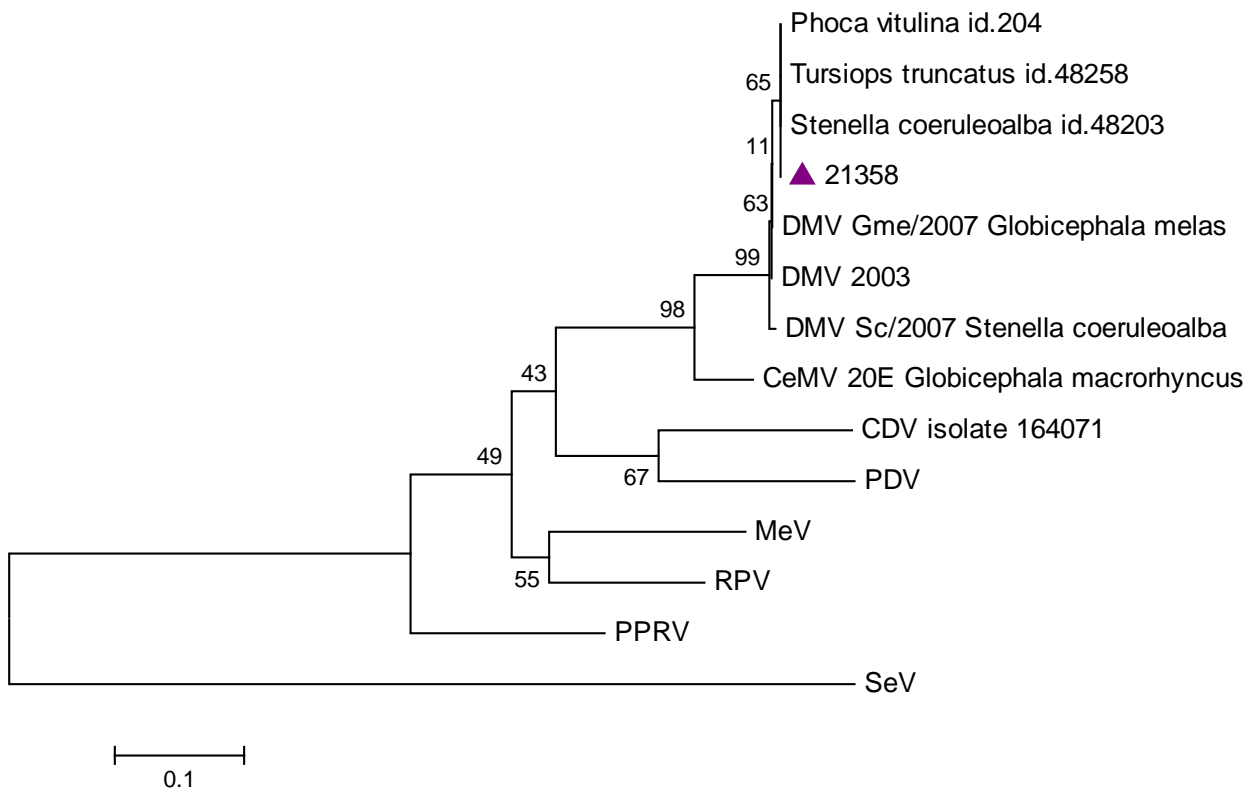
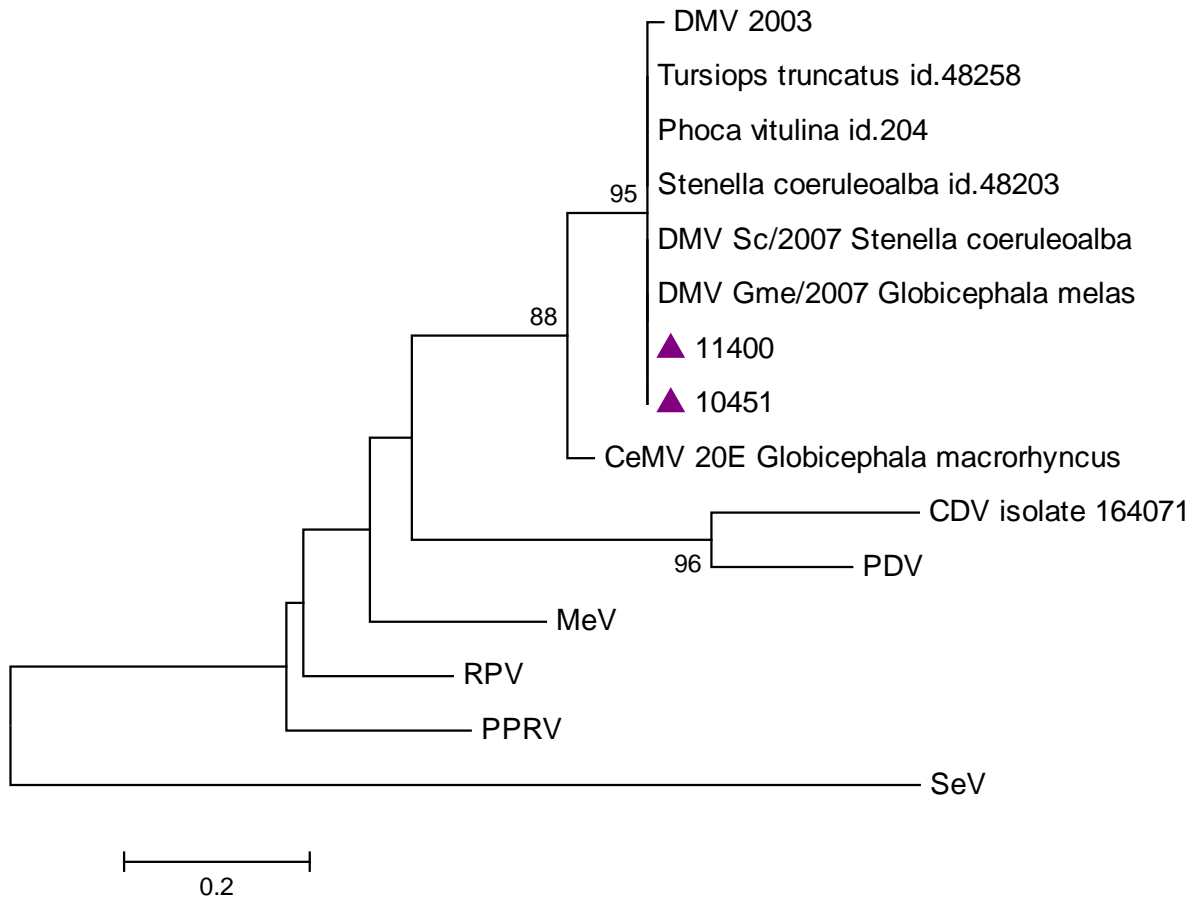


Fig. 3. Albero filogenetico costruito su un allineamento di 183 bp del gene H di DMV



CETACEI SPIAGGIATI LUNGO LE COSTE DELLA TOSCANA E LAZIO

ID	STATO CONS		MORBILLIVIRUS			HERPESVIRUS			BRUCELLA			PHOTOBACTERIUM DAMSELAE			TOXOPLASMA			PARASSITI	CONTENUTO STOMACALE	ALTRO	
			PCR	IHC	IF Ag	PCR	IHC	ALTRO	COLTURALE	SIEROLOGIA	ALTRO	COLTURALE	PCR	ALTRO	PCR	IHC	ALTRO				
13000761 (11590BDS)	2	Matrice	(+/-)	+						-			+			-			Monorigma grimaldi, Phyllobothrium delphini,	Scarso, gamberone e becchi di seppia	Aeromonas SNC, Cl. Perfringens Int; Molibdeno 1,2; Hg e metHg in corso
				TS									F, SNC, Liq. peric								
13001110 (11591 BDS)	3	Matrice	(+/-)	+						-			-					Monorigma grimaldi, Phyllobothrium delphini,	Vuoto	Molibdeno 1,2; Hg e metHg in corso	
				SNC																	
13002878 (11591 BDS)	4	Matrice	(+/-)	-						-			+							Vuoto	Molibdeno 0,69;
													F								
13003321 (11593 BDS)	3	Matrice	(+/-)	+						-			-					Phyllobothrium delpfhini	Abbondante (pesce)	Molibdeno 1,1;	
				SNC																	
13003322 (11594 BDS)	3	Matrice	(+/-)	-						-			-								Molibdeno 1,2; Causa di morte traumatica
13003419 (11595 BDS)	2	Matrice	(+/-)	dubbio						-			+					Campala, Tetrabothrium, Skrjabinalius	Vuoto	Molibdeno 0,61;	
				TS									F, M, Linf								
13003579 (11596 BDS)	2/3	Matrice	(+/-)	dubbio						-			+							Vuoto	Molibdeno 0,33;
													M, Linf								
13006897 (11597 BDS)	2/3	Matrice	(+/-)	-						-			+					Phyllobothrium delphini, Pholeter gastrophilus,	Scarso, seppie	Vibrio Parahaem.	
													SNC								
13007529 (11524 BDS)	3	Matrice	(+/-)	-						-			+	+				Monorygma e Phyllobothrium, Campula, nematodi polmonari	Vuoto	Clostridium sordellii (l), E. coli Vibrio Parahaem.	
						SNC, P/T							LNF, I								
13007929 (11613 BDS)	3	Matrice	(+/-)	+						-			+	+				Phyllobothrium, Pholeter	Pieno (Spessore grasso 1 cm)		
				SNC		SNC, P	SNC, I						I, P, LNF,SNC				SA 1:40				
13009643 (11616 BDS)	2	Matrice	(+/-)	-						-			+					Phyllobothrium delphini, Pholeter gastrophilus, Campula	Abbondante, nasello	Molibdeno 0,58	
													SNC, F, M								
				SNC									SNC, M								

ID	STATO CONS		MORBILLIVIRUS			HERPESVIRUS			BRUCELLA			PHOTOBACTERIUM DAMSELAE			TOXOPLASMA			PARASSITI	CONTENUTO STOMACALE	ALTRO
			PCR	IHC	IF Ag	PCR	IHC	ALTRO	COLTURALE	SIEROLOGIA	ALTRO	COLTURALE	PCR	ALTRO	PCR	IHC	ALTRO			
13009912 (11618 BDS)	4	(+/-)	-		-	-			-	-		-						Pholeter	Pieno (Spessore grasso 0.2 cm)	
Matrice				R, P																
13010632 (11636 BDS)	1	(+/-)	-			+			-			+			-			Synciamus, Monorigma grimaldi, Phyllobothrium delphini, Pholeter gastrophilus	Vuoto, resti di calamaro	Molibdeno 0,77
Matrice					I						F, I, P, Linf									
13010914 (11629 BDS)	3	(+/-)	-			+			-			-			-			Monorigma grimaldi, Phyllobothrium delphini,	Vuoto	Aeromonas (SNC,L,M) Probabile morte traumatica
Matrice					M															
13011463 (11693 BDS)	1	(+/-)	+			-			-			+			-			Phyllobothrium delphini, Skrjabinalius	Vuoto	
Matrice			SNC								SNC, M									
13011826 (11641 BDS)	2	(+/-)	-			-			-			+			-			Phyllobothrium delphini, Pholeter gastrophilus, Campula, Skrjabinalius	Stomaco pieno, calamari, gamberi, nasello	
Matrice											M, P, SNC									
13011827 (11688 BDS)	2	(+/-)	-			-			-			+			-			Phyllobothrium delphini, Pholeter gastrophilus	Abbondante, nasello	
Matrice											F, P, SNC, M									
13011851 (11635 BDS)	2	(+/-)	+			+			-			+			-			Monorigma grimaldi, Phyllobothrium delphini, Pholeter gastrophilus, Skrjabinalius	Vuoto	
Matrice			SNC			P					M									
13011852 (11634 BDS)	3	(+/-)	-			IN CORSO			-			+						Monorigma grimaldi, Phyllobothrium delphini, Pholeter gastrophilus, Skrjabinalius, Campula	Pieno	
Matrice											SNC, M, LN, COAG			-						
13011960 (11689 BDS)	4	(+/-)	+			+			-			+						-	-	
Matrice			SNC			SNC					SNC									
13012279 (11690 BDS)	3	(+/-)	-						-			+			-			Phyllobothrium delphini, Campula,	Abbondante, nasello	
Matrice											SNC, F, P									

ID	STATO CONS		MORBILLIVIRUS			HERPESVIRUS			BRUCELLA			PHOTOBACTERIUM DAMSELAE			TOXOPLASMA			PARASSITI	CONTENUTO STOMACALE	ALTRO
			PCR	IHC	IF Ag	PCR	IHC	ALTRO	COLTURALE	SIEROLOGIA	ALTRO	COLTURALE	PCR	ALTRO	PCR	IHC	ALTRO			
13012549 (11663 BDS)	3	(+/-)	-		-	IN CORSO			-	-		-			-		+	Monorygma e Phyllobothrium, Strobilocephalus, Campula, nematodi plomonari	Pieno (Spessore grasso 1.2 cm)	<i>Pseudomonas putrida</i> (SNC)
		Matrice			SNC, P												SA 1:80			
13013066 (11662 BDS)	2	(+/-)	IN CORSO		-	IN CORSO			-	-		-			-		+	Monorygma e Phyllobothrium, Campula, Crassicauda (rene), nematodi polmonari	Vuoto (Spessore grasso 1.2 cm)	
		Matrice			SNC,P												SA 1:80			
13013328 (11658 BDS)	4	(+/-)																		Necroscopia in campo, nessun esame
		Matrice																		
13013332 (11682 BDS)	3	(+/-)	-			-						+			-			Phyllobothrium delphini	Vuoto, ossi di seppia	
		Matrice										SNC, F, M								
13014061(11659 BDS)	3	(+/-)	+			-			-			+						-	-	Assenza di organi cavitari
		Matrice	SNC									SNC, LN								
13014806 (11675 BDS)	4	(+/-)	+		-	-			-	-		-			+	+		Phyllobothrium, Campula, nematodi polmonari	Vuoto (Spessore grasso 1.3 cm)	
		Matrice	SNC		SNC										SNC	SA 1:2560				
13014824 (11691 BDS)	5	(+/-)																		
		Matrice																		
13015126 (11692 BDS)	3	(+/-)	-			-			-			+			-			Skrjabinalius	Vuoto	
		Matrice										I								
13015127 (11673 BDS)	3	(+/-)	-			-			-			+			-			Phyllobothrium delphini,	Vuoto	
		Matrice										F, I, P								
13015306 (11674 BDS)	3	(+/-)	+		-	-			-	-		-			-			Monorygma e Phyllobothrium, Strobicephalus, Pholeter, Crassicauda	Vuoto (Spessore grasso 0.7 cm)	<i>Klebsiella</i> (P) , <i>Morganella morganii</i> (SNC)
		Matrice	P		SNC, P															
13017376 (11685 BDS)	3	(+/-)	IN CORSO			IN CORSO									-					
		Matrice																		

ID	STATO CONS		MORBILLIVIRUS			HERPESVIRUS			BRUCELLA			PHOTOBACTERIUM DAMSELAЕ			TOXOPLASMA			PARASSITI	CONTENUTO STOMACALE	ALTRO
			PCR	IHC	IF Ag	PCR	IHC	ALTRO	COLTURALE	SIEROLOGIA	ALTRO	COLTURALE	PCR	ALTRO	PCR	IHC	ALTRO			
13019101 (11704 BDS)	3	(+/-)	IN CORSO			IN CORSO												Monorigma grimaldi, Phyllobothrium delphini, Pholeter gastrophilus, Skrjabinalius	Parzialmente pieno, gamberi, sgombri	
		Matrice																		
13019559 (11733 BDS)	3	(+/-)	IN CORSO			IN CORSO														
		Matrice																		Vuoto
13017520 (11687 BDS)	4	(+/-)	IN CORSO			IN CORSO			-	-		-			-					
		Matrice	L									LNF								(Spessore grasso 10 cm)
13017526 (11687 BDS)	3	(+/-)	IN CORSO		-	IN CORSO			-	-		+					+			
		Matrice			SNC, P							P					1:1280	Pholeter, nematodi polmonari	Pieno (Spessore grasso 1.5 cm)	<i>E. coli</i> (F), <i>Clostridium perfringens</i> (I)

ESAME ISTOLOGICO

ID	SNC	CUORE	POLMONE	FEGATO	RENE	MILZA	LINFONODI	ALTRO
13000761	Iperemia, emorragie, vasculite		Polm. int. linfoplasmacell., edema perivasale, calcificazione epiteli bronchiale	Grave iperemia, emorragie. Lieve epatite perit portale. Accumulo bilirubina	Iperemia, emorragie			Surrene: Infiltrati linfoplasmacell midollare. Aree di necrosi
13001110			Polmonite parassitaria					
1300341ese9	Neuronofagia, microemorragie, edema perivascolare		Pleuropolmonite parassitaria	Lieve epatite periportale linfoplasmacellulare	Necrosi tubulare		Necrosi centrollicolare lieve	
13003579	Neuronofagia, lieve gliosi, degenerazione neuronale, lieve meningite linfoplasmacellulare, lievi manicotti perivascolari, edema.							
13006897	Lievi emorragie	Emorragie ed edema multifocale		Iperemia, emorragie, emosidermia. Nodulo focale linfoplasma periduttale		Emosiderosi	Numerosi eosinofili, singole cellule in apoptosi, iperplasia follicolare.	Surrene: Iperemia ed emorragie della midollare. Cisti multifocali
13007529	Iperemia, emorragie	Iperemia moderata	Lieve polmonite linfoplasmacellulare	Emorragie	Proteinuria, lieve nefrocalcinosi	Siderofibrosi, iperemia, emorragie		
13007929								
13009643	Degenerazione neuronale, Lipofuscinosi, Demielinizzazione?		Lieve polmonite linfoplasmacellulare, marcata congestione, polmonite interstiziale-fibrinosa lieve		Proteinuria, lieve nefrocalcinosi	Placche siderocalcifiche		
13009912								
13010632		Iperemia	Polmonite parassitaria, calcificazione bronchiale	Lieve colangioepatite, iperemia, emorragie	Glomerulonefrite multifocale, glomerulosclerosi, iperemia, emorragie, infiltrato plasmacell capsula	Iperemia, emorragie	Iperplasia follicolare, emorragie capsulari	Surrene: Emorragie capsulari
13011463		iperemia, emorragie	Calcificazione epiteli bronchiale, marcata congestione, polmonite intestiziale lieve	Iperemia, emorragie, councilman bodies, Lieve epatite periportale linfoplasmacell, emosiderosi	Emorragie, lieve proteinuria e mineralizzazione		Iperplasia follicolare	Surrene: emorragie, lieve infiltrato linfoplasmacell
13011826	Edema perivascolare, emorragie multifocali, iperemia meningi, gliosi.			Councilman bodies, emorragie centrolobulari, edema periportale, epatite linfoplasmacell periportale, apoptosi singoli epatociti	Gravi emorragie intestinali, crescents glomerulari			
13011827	Degenerazione neuronale, ectasia linfatici, demielinizzazione, iperemia meningi		Lieve enfisema, calcificazione bronchiale	Iperemia, emorragie, lieve epatite periportale linfoplasmacell		Aree necrosi sottocapsulare, lieve perisplenite linfoplasmacell	Iperplasia follicolare, numerosi eosinofili, lieve necrosi seni, iperemia, emorragie.	Surrene: Iperemia, emorragie, Tiroide: iperemia, emorragie
13011851	Degenerazione corteccia anteriore, discontinuità cell purkinje, edema					Marcata iperplasia follicolare, emorragie, perisplenite linfoplasmacell	emorragie gravi, singole cellule in necrosi	

	perivasale, neuroni rigonfi, gliosi, mnicotti perivascolari lievi, iperemia, emorragie.							
13011852								
13012279	Lievi manicotti perivascolari, lieve meningite, linfoplasmacell					Mielopoiesi extramidollare		
13012549	Neuronofagia, emorragie, vasculite, iperemia ed emorragie plessi, lievimanicotti perivascolari, aree demielinizzazione	batteri nei vasi					Necrosi centrollicolare, batteri	
13013066								
13014061	Demielinizzazione, neuronofagia, satellitosi							
13014806								
13015126								
13015127								
13015306								
13017376								
13017526								
13019559								

CETACEI SPIAGGIATI LUNGO LE COSTE DELLA CAMPANIA E DELLA CALABRIA

ID	STATO CONS		MORBILLIVIRUS			HERPESVIRUS			BRUCELLA			PHOTOBACTERIUM DAMSELAE			TOXOPLASMA			PARASSITI	CONTENUTO STOMACALE	ALTRO
			PCR	IHC	ALTRO	PCR	IHC	ALTRO	COLTURALE	SIEROLOGIA	ALTRO	COLTURALE	PCR	ALTRO	PCR	IHC	ALTRO			
7777 (11600 BDS)	3	(+/-)	+									+			-	-				<i>C.freundii</i> , <i>A. sobria</i> , <i>s.paucimobilis</i> : F <i>S. xylosus</i> : P
		Matrice	P									F			SNC,P					
10414 (11601 BDS)	2	(+/-)	+	-											-	-				<i>Salmonella</i> sp.:I <i>P. vulgaris</i> :P <i>A. caviae</i> : F, SNC, P <i>A. lwoffii</i> SNC, M <i>L. raffinolactis</i> R; SNC
		Matrice	M												SNC,P, M					
17292 (11604 BDS)	3	(+/-)	+	-								+			-		+			<i>A.sobria</i> : P <i>Pholeter gastrophilus</i> : S
		Matrice	SNC ,P									F,R,M			SNC,P, M		1:80 IFAT			
21358 (11623 BDS)	2	(+/-)	+	-		-						+			-		+			Grave infestazione: <i>Pholeter grastrophilus</i> :S <i>Phillobotrium</i> sp.muscolo, Nematodi polmone
		Matrice	SNC, P	SNC, P								F			SNC, P, M		1:80 IFAT			
31902 (11672 BDS)	2	(+/-)	-						IN CORSO			IN CORSO			-					<i>Taenia</i> : intestino <i>Pholeter grastrophilus</i> : S
		Matrice	SNC												SNC					
8346 (11599BDS)	2	(+/-)	-						-			-			-					Nematodi polmonari: P <i>Anisakis</i> : S, I. Tenia: I Trematodi: F. <i>Phyllobothrium</i> : Muscolo
		Matrice	SNC						SNC, F, ALTRO			SNC,F,P,R, ALTRO			SNC					
11338 (11602BDS)	3	(+/-)	-								-				-					Cestodi intestinali
		Matrice	SNC								SIERO				P,C SNC					

ID	STATO CONS		MORBILLIVIRUS			HERPESVIRUS			BRUCELLA			PHOTOBACTERIUM DAMSELAE			TOXOPLASMA			PARASSITI	CONTENUTO STOMACALE	ALTRO	
			PCR	IHC	ALTRO	PCR	IHC	ALTRO	COLTURALE	SIEROLOGIA	ALTRO	COLTURALE	PCR	ALTRO	PCR	IHC	ALTRO				
16107 (11603BDS)	3	(+/-)	+													-					
		Matrice	SNC														SNC				
21874 (11649BDS)	3	(+/-)	+													-			Parassiti vie aeree profonde		
		Matrice	SNC														SNC			Parassiti intestinali	
22603 (11608BDS)	2	(+/-)	-													-			Cisti parassitarie stomaco.		C.famata: P
		Matrice	SNC														SNC			Polmone positivo nematodi.	
27651 (11646BDS)	4	(+/-)	IN CORSO			IN CORSO															
		Matrice																			
33251	2	(+/-)																			
		Matrice																			

ESAME ISTOLOGICO

ID	SNC	CUORE	POLMONE	FEGATO	RENE	MILZA	LINFONODI	ALTRO
7777 (11600 BDS)	Manicotti perivascolari linfocitari, encefalomalacia di vaste aree di sostanza grigia e bianca. Degenerazione neuronale e neuronofagia	Stasi dei vasi; stravasi ematici; emorragie miocardio perimisiale; presenza di fibrina con infiltrati linfocitari; fibre Purkinje degenerate, necrotiche. Compatibile con Arresto cardaco	Stasi sanguigna, iperemia, enfisema alveolare, presenza di essudato sierofibrinoso e infiltrati linfocitari e macrofagici a livello di bronchi e bronchioli. Compatibile con Broncopolmonite	Assottigliamento capsulare; manicotti perivascolari linfocitari; focolai di necrosi e degenerazione epatocitaria				
17292 (11604 BDS)								Neoformazioni parassitarie in stomaco
10414 (11601 BDS)	Degenerazione neuronale, neuronofagia, astrocitosi, encefalomalacia, manicotti perivascolari mononucleati	Iperplasia endotelio vasale e stasi sanguigna in sede supiacardica e miocardica. Degenerazione e necrosi fibre miocardiche; Presenza di fibroblasti e infiltrati linfocitari in sede perivasale. Quadro compatibile con Ischemia cardiaca	POLMONE PARASSITATO: Fenomeni congestizio-emorragici e neoformazione tessuto fibroso. Presenza di infiltrati di natura linfocitaria. Si individuano uova di parassita. TESSUTO POLMONARE:ispessimento pleura, enfisema; infiltrati linfocitari, fibrosi tissutali con infiltrati infiammatori; necrosi parete bronchi e bronchioli. Compatibile con broncopolmonite	Ispessimenti e assottigliamenti della capsula; manicotti linfocitari; fenomeni degenerativi degli epatociti; scompaginamento epitelio dotti biliari	Stasi sanguigna in sede intertubulare; trombosi capillari glomerulari; quadri di tiroidizzazione tubulare; fibrosi perivasale; emorragie midollari e cortico-midollari	Ispessimento e assottigliamento capsula splenica; Stasi vasale; focolai di necrosi; formazione di placche con siderina; Presenza di cellule infiammatorie mononucleate nel letto vascolare.		
21358 (11623 BDS)	Fenomeni congestizio-emorragici dei plessi coroidei; iperplasia endotelio vasi, degenerazione neuroni, neuronofagia e presenza di gitter cells.	Fenomeni congestizio-emorragici in sede subepicardica, iperplasia endotelio vasale. Focolai di necrosi puntiformi nel miocardio	Fenomeni congestizio – emorragici della parete alveolare, enfisema e accumulo di fibrina in ambito alveolare. Infiltrati di eosinofili nella parete alveolare. Presenza di parassita. Compatibile con polmonite parassitaria	Degenerazione parenchima con congestione e stasi sanguigna vene e arterie delle triadi; infiltrati infiammatori perivascolari. Fenomeni trombo embolici. Fibrosi paenchima. Presenza di parassita.	Iperplasia e ipertrofia endotelio vasi, fibrosi perivasale, dilatazione tubulare con accumulo di materiale eosinofilo; tiroidizzazione tubulare. Infiltrati linfoplasmacellulare. Fibrosi capsula Bowman, atrofia glomerulare e iperplasia.	Congestione della polpa, assottigliamento tessuto trabecolare. Presenza di megacariociti e eosinofili.	Stasi sanguigna extracapsulare e ispessimenti ed assottigliamenti della capsula. Presenza di eosinofili.	Blubber: parassitosi da Dipyllobotrium Stomaco pilorico e ghiandola: Presenza di Digenea (Pholeter gastrophilus)
31902 (11672 BDS)	Encefalomalacia, degenerazione neuronale, neuronofagia, edema	Stasi sanguigna a carico dei vasi, emolisi e fibrosi perivasale; necrosi di porzioni di miocardio e fenomeni di calcificazione	Emorragie del parenchima, stasi sanguigna e infiltrati peribronchiali di eosinofili e monociti; nell'ambito di granulomi granulocitari presenza di parassiti; cellule in necrosi. Compatibile con polmonite parassitaria.	Fenomeni congestizio-emorragico; degenerazione epatocitaria e infiltrati granulocitari con eosinofili e macrofagi attivati. Fibrosi perivasale e periduttale. Presenza di Trematodi	Emorragie e stasi sanguigna corticale; necrosi tubulare, trombosi capillari glomerulari, lieve fibrosi perivasale	Quadro congestizio – emorragico; massiva presenza di granulociti eosinofili e trombociti	Rarefazione linfocitaria e massiva presenza di granulociti eosinofili sia nel letto vascolare sia in corticale e midollare.	Neoformazione gastrica: presenza di parassita Digenea Pholeter gastrophilus; granulociti eosinofili, neutrofilo e cellule giganti multinucleate
11338 (11602 BDS)								
8346 (11599BDS)								
16107 (11603BDS)	Encefalomalacia e degenerazione neuronale. Presenza di eosinofili in ambito vasale e gitter cells.							
21874 (11649 BDS)	Emorragie in ambito sub aracnoideo e necrosi della corteccia e della sostanza grigia, degenerazione neuronale e neuronofagia.						Atrofia e fibrosi	
22603 (11608BDS)	Fenomeni congestizio-emorragici; encefalomalacia, infiltrati infiammatori monocitari. Degenerazione neuronale e neuronofagia.							
27651 (11646 BDS)								
33251								

CETACEI SPIAGGIATI LUNGO LE COSTE DELLA SARDEGNA

ID	STATO CONS		MORBILLIVIRUS			HERPESVIRUS			BRUCELLA			PHOTOBACTERIUM DAMSELAE			TOXOPLASMA			PARASSITI	CONTENUTO STOMACALE	ALTRO
			PCR	IHC	ALTRO	PCR	IHC	ALTRO	COLTURALE	SIEROLOGIA	ALTRO	COLTURALE	PCR	ALTRO	PCR	IHC	ALTRO			
Globicefalo 12804 (11645 BDS)	3	(+/-)	-						-			-			+					
		Matrice	P						P;F.			P			P; F					Totani, Seppie
Tursiope12818 (11654 BDS)	3	(+/-)	-						-			-			+					
		Matrice	P, SNC						P;F; SNC;Gonadi.			SNC, P			P; F					Totani, pesce
Stenella16818 (11642 BDS)	4	(+/-)	-									+	+		-					
		Matrice	P						In corso			P	P		F;M;P					
Tursiope23053 (11668 BDS)	3	(+/-)	-									-	+		+					
		Matrice	P, SNC						In corso			P, SNC	P, SNC		P; SNC.					Pesce
Stenella23544 (11664 BDS)	1	(+/-)	-								- (Pcr)	+			+					
		Matrice	P, SNC									F, I, LNF			P					
Stenella28609 (11695)	5	(+/-)																		
		Matrice													In corso					
Stenella28609 (11696)	5	(+/-)																		
		Matrice													In corso					
Stenella29795 (11701 BDS)	3	(+/-)																		
		Matrice							In corso			In corso			In corso					

ESAME ISTOLOGICO

ID	SNC	CUORE	POLMONE	FEGATO	RENE	MILZA	LINFONODI	ALTRO
12804 (11645 BDS)								
12818 (11654 BDS)								
16818 (11642 BDS)			Polmonite interstiziale cronica con lieve infiltrato mononucleare, aspetti di alveolite desquamativa ed enfisema vicariante.		Nella norma			
23053 (11668 BDS)				Lievi fenomeni di steatosi epatica e rarissimi focolai di necrosi	Presenza di colonie batteriche			
23544 (11664 BDS)								
29795	In corso	In corso	In corso	In corso	In corso	In corso	In corso	

CETACEI SPIAGGIATI LUNGO LE COSTE DELLA SICILIA

ID	STATO CONS		MORBILLIVIRUS			HERPESVIRUS			BRUCELLA			PHOTOBACTERIUM DAMSELAE			TOXOPLASMA			PARASSITI	CONTENUTO STOMACALE	ALTRO
			PCR	IHC	ALTR	PCR	IHC	ALTRO	COLTURA LE	SIEROL	ALTRO	COLTURALE	PCR	ALTRO	PCR	IHC	ALTRO			
15043(11666 BDS)	3	(+/-)	-						-			+			-	-		Anisakis: S, I	CANNE DI BAMBU'	Clostridium spp: P, R E. coli: SNC, C Proteus: LNF Candida crusei:TS
		Matrice	SNC									F, M, R,LNF, SF								
9183(11589 BDS)	3	(+/-)	IN CONFERMA						-			-			-			Cestodi: Muscolo		E. coli: F, P, R,C Clostridium spp: P, M
		Matrice	P																	
9234(11611 BDS)	2	(+/-)	IN CONFERMA						-			+			-			Nematodi: P Cestodi: I		Pseudomonas: SNC, C, P E. coli: SNC, I Klebsiella: R, I Streptococcus spp.: P, I
		Matrice	C									P								
10411		(+/-)	-	-					-			-			-			Nematodi: P Cestodi: I		E. coli: F, P, C Klebsiella: SNC, M, R, I
		Matrice	SNC,P,C																	
10451		(+/-)	IN CONFERMA						-			-			-			Nematodi: P Cestodi: I		Proteus spp.: P, M, R
		Matrice	M																	
11400		(+/-)	IN CONFERMA						-			-			-			Anisakis: S		Encefalo colliquato. Proteus spp.: F, P, C Clostridium spp.: R,M
		Matrice	P,C,SNC CUTE,D																	
12658(11639 BDS)	1	(+/-)	-						-			+			-			Trematodi: F Anisakis: S Cestodi: Muscolo		E.coli: SNC, F, P, C, I
		Matrice	SNC									SNC, F, P, M, R, C								
12856(11652 BDS)	3	(+/-)	IN CONFERMA	+					-			-			-			nematodi: P Anisakis: S		E.coli: F,M Proteus:P, R
		Matrice	SNC	SNC																
13636(11657 BDS)	2	(+/-)	-	-					-			+			-	-				E. coli: TS, C
		Matrice	SNC									F, SNC, P, M, R, LNF, TS								
17291(11678 BDS)	3	(+/-)	IN CONFERMA						-			-			-			Nematodi: P		E. coli: SNC Streptococcus spp.: F, R
		Matrice	SNC											SN C						

ESAME ISTOLOGICO

ID	SNC	CUORE	POLMONE	FEGATO	RENE	MILZA	LINFONODI	ALTRO
15043 (11666BDS)								Stomaco:granulomi parassitari
9183 (11589 BDS)			Edema alveolare, rari infiltrati monocitari,	Inf monocitaria periportale. Epatite cronica di grado lieve. Vacuoli citoplasmatici	Tubuli-precipitati corpi basofili, dilatazioni tubulari. Nefrosi tubulare			
9234 (11611 BDS)			Linf monocitaria, linfoplasmacell, quadro diffuso di enfisema.	Epatite cronica di grado lieve.	Forme essudative, ispessimento della capsula, midollare con infiltrati basofili. Glomerulo nefrite cronica associata a nefrosi tubulare			
10411	Nella norma							
10451								
11400	Autolisi		foci di infiltrato mononucleato e presenza di macrofagi e polimorfo nucleati all'interno del lume bronchiale ed alveolare	Autolisi				
12658 (11639 BDS)	Nella norma		Polmonite linfoplasmacellulare	Infiltrati diffusi. Epatite cronica di grado lieve	Infiltrati interstiziali			Noduli a livello dello stomaco. Anisakis
12856 (11652 BDS)	Nella norma		Autolisi	Autolisi		Autolisi		
13636 (11657BDS)	In sostanza grigia: manicotti perivascolari con cell mononucleate, neovascolarizzazione, gliosi e neuronofagia. Meningite mononucleata, gliosi, neutrofilo, edema. Nella sostanza bianca (cervelletto e parietale): malacia, vasculite, emorragie		Infiltrati monocitari	Epatite cronica di grado lieve	Glomerulo nefrite cronica			
17291 (11678 BDS)								