

IBEX JOURNAL OF  
MOUNTAIN  
ECOLOGY



Anno VI, II Semestre 2003 - Collana Scientifica Parco Nazionale Gran Paradiso: n. 1/2003

L. Ramires

NO. 7 (SUPPLEMENT) - AUTUMN 2003

# Journal of Mountain Ecology

(IBEX)

Registrazione del Tribunale di Torino n. 4582 del 23/04/93

**Editrice:** Ente Parco Nazionale Gran Paradiso - Via della Rocca, 47 - 10123 Torino - Italy

Tel. (+39) 011 .86.06.211/216 - Fax (+39) 011.81.21.305

E-mail: [scientifico@pngp.it](mailto:scientifico@pngp.it)

**Impaginazione, Grafica e Stampa:** Colorit s.r.l. - Via Tempio Pausania, 4 - 10137 Torino - Italy

E-mail: [info@colorit.net](mailto:info@colorit.net) - [www.colorit.net](http://www.colorit.net)

**Director of publications:** Michele Ottino

**Associate Editors:** Bruno Bassano, Carol Mann, Achaz von Hardenberg



Provincia di Sondrio  
Assessorato Agricoltura  
Caccia Pesca



Istituto Nazionale per la  
Fauna Selvatica  
"Alessandro Ghigi"



Viote del  
Monte Bondone



**SIEF**

Società Italiana di Ecopatologia della Fauna

## II Convegno Nazionale Ecopatologia della Fauna Selvatica

Con il patrocinio di:

- Ministero della Sanità
- Ministero dell'Ambiente
- Regione Lombardia
- Parco Nazionale dello Stelvio
- Facoltà di Medicina Veterinaria di
  - Bologna
  - Messina
  - Milano
  - Sassari
  - Torino

Bormio, 8-10 Ottobre 1998 - Centro Congressi

## PREFACE

The *Journal of Mountain Ecology* is glad to publish the proceedings of the Second Conference of the Italian Society for Eco-pathology of Wildlife (SIEF). The main reasons for this event are to be searched partially in the themes included in these proceedings, and partially in the long tradition of the Gran Paradiso National Park (GPNP) in the study of wildlife pathology. These proceedings include some important contributions to the knowledge of the sanitary condition and the ecology of mountain wildlife, both in the Alps and in the Apennines. Of particular interest is the effort to develop ecological and mathematical models for the prediction of the effects of pathologies, particularly virus infections – Swine pest -, bacterial infections – micobacteriosis, brucellosis, paratuberculosis -, and macro-parasites – abomasal nematodes, coccidiosis – on the population dynamics of wildlife species. The eco-pathological approach is enforced by the presence of some ecological papers, focused on the climatic modifications of landscape and alpine vegetation and on the modifications of local biodiversity. These topics on wildlife pathology are of particular interest for the GPNP and, therefore, suitable for publication in the *J.Mt.Ecol.* The GPNP is interested in the study and monitoring of wildlife pathology since the end of the Second World War with the work of the late Prof. Videsott, veterinarian and director of the GPNP, and was then continued by Dr. Peracino, first Sanitary inspector of the GPNP. It is not the first time that the *J.Mt.Ecol.* dedicates space to papers on wildlife pathology, and we hope to have done a service to the national and international scientific community, in publishing these works. As the official conference language was Italian, most contribution to this supplement are in this language

*The Director of GPNP*  
**Michele Ottino**

## FOREWORD

The health of wildlife populations is catalysing a growing interest by people, the scientific community and policy makers. Increasing human activities caused an intermingling of wildlife, domestic animals and human populations. At the same time change in land utilisation and loss of biodiversity are strongly enhanced. In such a situation infectious and non-infectious wildlife diseases are recognised to play a relevant role for both conservation and public health. Nowadays wildlife medicine cannot be restricted only to research groups or to “naive” interests of few individuals, neither wildlife management can be drive only by emotional approaches. A robust scientific background is largely needed. Because of the complexity and multifaceted aspects of the sanitary problems in free ranging populations, the ecology of wildlife diseases arises as a key factor in any of the possible epidemiological scenarios. This achievement is the basic step for addressing any further strategies for a sustainable management, focused not only on wild populations, but on entire ecosystems, that is the final goal of any action plan. This topic was the main framework of the II National meeting of the Società Italiana di Ecopatologia della Fauna (S.I.E.F.), and despite the congress was held in October 1998 we deemed important still to publish the proceedings. Initially the proceedings should have been published by the Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica “Alessandro Ghigi”, the national research and advisory agency for wildlife management in Italy. The administrative transition imposed to the Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica strongly delayed the publishing until we received the proposal of the Gran Paradiso National Park to have a special issue of the *Journal of Mountain Ecology* dedicated to the meeting. The value of this peer-reviewed journal in the field of wildlife conservation and management, convinced the SIEF to accept the proposal. We strongly believe that the on-line access will promote a wide diffusion of the data and concepts reported by all the authors. The interdisciplinary approach of the meeting was due to the believing that free-ranging wildlife diseases control and management are a very difficult goal that can be accomplished only with the skills of different professional figures. The meeting was financially supported by many Local and Central Authorities suggesting that administrative agencies were strongly interested into wildlife diseases and management. We want to thank all of them not only for the financial support, but also for their trust on our policy. We are particularly grateful to Provincia di Sondrio, Comunità Montana Alta Valtellina, Comune di Bormio, Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica and Centro di Ecologia Alpina. Last but not least we want to remember the presence at the meeting in Bormio of some internationally well known colleagues, two from north America and five from Europe. They gave us an up to date of the major trends in wildlife diseases study and management. To all of them our sincere thanks for giving us an international insight into the world of wildlife and earth health. We hope that the papers presented in these proceedings could be an useful tool for all the people involved in wildlife diseases research and management.

*On behalf of the SIEF Scientific Board*  
**Paolo Lanfranchi**



# LAND USE CHANGE AND BIODIVERSITY CONSERVATION IN THE ALPS

Chemini C., Rizzoli A.

Centro di Ecologia Alpina, I-38040 Viote Monte Bondone (Trento), Italy, chemini@cealp.it

**Abstract** - Human activities are changing the Planet, inducing high rates of extinction and a worldwide depletion of biological diversity at genetic, species, and ecosystem level. Biodiversity not only has an ethical and cultural value, but also plays a role in ecosystem function and, thus, ecosystem services, which are essential to civilization, economic production, and human wellbeing. The functional role of biodiversity is still poorly known; a minimum level of biodiversity is required for sustainable preservation of ecosystem functions, and as an insurance for future environmental changes. A large part of the biodiversity of the Alps is linked to an interaction between the natural environment and traditional human practices. At present, the change in land-use, with both intensification and abandonment, and other environmental and socioeconomic processes at different scales (urbanization, tourism, pollution, global change, etc.) are important forces of environmental change. Mowing and livestock grazing are primary factors inhibiting woody plant succession in many areas of the Alps. Abandonment and fragmentation has resulted in an expansion of ecotones and edge, with increase in tick-hosts and possibly changes in host-parasite interactions resulting from species concentration. The abandonment of mountain fields and meadows with a consequent expansion of shrubs and forests has caused a decrease of several grassland species, such as rock partridge *Alectoris graeca*; some arthropod communities of grassland have also been affected. Many forest species should find new opportunities, but in several cases the forests have become too dense for some species, such as capercaillie *Tetrao urogallus*. In the low altitude belts, a high species diversity co-occurs with human disturbance. Biodiversity studies require an interdisciplinary approach by the life sciences, and an interface to socioeconomic sciences. Preservation of species and landscape diversity cannot prescind from a dialogue between different actors and interests.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 1 - 7

## 1. Introduction

The Convention on Biological Diversity (CBD), output of the UNCED (Rio) summit of June 1992, signalled global recognition of the alarming loss of biodiversity, as well as the awareness of its values. The Convention came into force in December 1993, and was signed by the European Union (EU) and its member states. CBD affirms that conservation of biodiversity is a common concern of humankind, and gives the following definition: "Biological diversity (or biodiversity) means the variability among living organisms from all sources including, inter alia, terrestrial, marine and other aquatic ecosystems and the complexes of which they are part; this includes diversity within species, between species and of ecosystems".

On the follow up to the CBD, and in order to implement its principles and international engagements, the EU created a series of initiatives and agreements aimed at reversing the depletion of diversity in Europe, setting up several legal instruments (e.g., the Habitats Directive) and undertaking some actions. Particular relevance for research are the recent "EU Strategy on Biodiversity" (approved on 4 February 1998) and "Understanding Biodiver-

sity", the Agenda for research into biodiversity prepared by the European Working Group on Research and Biodiversity (Catizzone *et al.*, 1998). The Agenda stressed the fact that most concern for biodiversity results from the evidence of a huge increase in the risk of plant and animal extinction occurred over the last two centuries, with an acceleration in the last few decades. Extinctions are a natural phenomenon, but they now occur at an overwhelming rate due to human activity: recent and ongoing rates of species loss exceed background levels by two to three orders of magnitude (Balmford, 1996). In addition, domesticated species have suffered a depletion of genetic diversity, with extinction of many breeds.

Biodiversity results from the combined interactions and relationships between natural circumstances and human influence. Historically, the single most important factor generating reduction in biodiversity is human land use, and thus change in land use practices (Catizzone *et al.*, 1998). During the last few decades, man has emerged as an impressive new force of nature, not only mechanically transforming the land, and adding and removing species, but also altering the major biogeochemical cycles (Lubchenco, 1998). The types,

rates and the spatial scales of the changes are increasing, resulting in an alteration of the functioning of the Earth systems and irreversible losses of biological diversity. These changes in pattern and processes are rarely under human control.

## 2. Why defend biodiversity

Biodiversity is not only an ethical and aesthetic inheritance for future generations. It provides a genetic bank that is essential to medical, agricultural and other scientific progress; most importantly, it plays a basic role in the ecosystem functions. Ecosystem functions provide, directly or indirectly, the ecosystem services to the human population, such as climate and water regulation, waste treatment, nutrient cycling, food production, genetic resources, and recreation. Ecosystem services are critical to the functioning of the Planet's life-support systems, provide a basic contribution to human welfare, and are part of the total economic value of the planet (Costanza *et al.*, 1997).

Various methods have been used to estimate the value of ecosystem services; moreover, biodiversity can be assigned an economic value. This exercise is obviously difficult, both theoretically and in practice, but it has the advantage of making the role of biodiversity more understandable to policy makers, and more visible to the public at large (Bengtsson *et al.*, 1997; Catizzone *et al.*, 1998).

In fact, it is becoming increasingly obvious that also the economic systems are intrinsically interlinked with the environment and its diversity. The assumption that society must choose between jobs and environment is false: the real choice is between short-term gain and long-term sustained prosperity and development (Lubchenco, 1998).

## 3. Biodiversity in action

How does biodiversity work, and how is it related to ecosystem function? We can reasonably argue the existence of a relationship between the composition and structure of natural communities and ecosystem function, although we know surprisingly little about it (Huenneke, 1994; Bengtsson *et al.*, 1997).

An unresolved issue is how the diversity of organisms influences ecosystem processes. Species may differ within and between communities in properties that affect ecosystem and global processes such as productivity, nutrient cycling and fluxes of carbon, water, energy and trace gases between the ecosystem and the

atmosphere. The early axiom that more diverse ecological communities are the most stable (MacArthur, 1955) has been challenged by some recent field studies and theoretical approaches. Several hypotheses about the relationship between biodiversity and ecosystem function have been proposed, and we now know that an increase in species richness with the productivity is not universal (Johnson *et al.*, 1996; Bengtsson *et al.*, 1997). In any case, there is a growing appreciation that species diversity can influence the stability and productivity of ecosystems. A synthetic theory of species diversity that predicts relationships between diversity and productivity, taking into consideration the spatial scaling of resource use by species of different body size was recently proposed by Ritchie & Olff (1999). Most theoretical and empirical evidence supports the idea that species number, and especially the nature of species interactions, influence the behavior and function of ecological systems (Johnson *et al.*, 1996).

Biodiversity plays a role in the two main components of the stability: ecosystem resistance, *i.e.* the ability to maintain an ecosystem function, and ecosystem resilience, *i.e.* the ability to recover to normal function levels after disturbance. Ecosystems host many species, but a large part of the work is performed by a few keystone species. Apparently, many species are of minor or no importance to ecosystem processes. To evaluate their role, we must consider changing environments, and not average conditions; diversity can provide insurance for the future, and rare species can also play an important role in ecosystem resistance and resilience under unusual conditions (Schulze and Mooney, 1993; Bengtsson *et al.*, 1997). Schulze & Mooney (1993) compared an ecosystem to a car: some parts are needed for the continuous function, such as the fuel line, others only for emergency (*e.g.* the bumpers), others are used occasionally but are of basic importance, as the brakes.

Four main hypotheses on the relationships between biodiversity and functioning are summarized by Johnson *et al.* (1996): *i.* every species in the system increases the productivity and stability of ecological communities, and so that the deletion of any one species will decrease the ecosystem process rate; *ii.* a number of redundant species can be removed without consequences, as with the rivets of an airplane: beyond a certain threshold number, the airplane (ecosystem) crashes; *iii.* the species are

grouped in functional groups, and within each group the species going extinct are substituted by other species of the same functional group; *iv.* there is no determinate relationship between species composition and ecosystem function.

The simplest definition of biodiversity is the number of species living in an area. The set up of local faunas results from a series of processes that were summarized by Schluter & Ricklefs (1993). The classic diversity theory refers to local interactions of species within reduced areas, including predation and competition. But these local processes are interlinked with regional processes. In fact, there is a movement of individuals between the patches of the same fragmented habitat, and a dispersal of individual between habitats, which reflects the variety of habitats within a larger region; in this way, the communities may reach an equilibrium at a larger scale. In addition, the historical and biogeographical perspectives play a crucial role. For example, the long evolutionary history of taxa that requires defined ecological conditions to colonize a habitat; allopatric speciation within a region; large exchanges of taxa between regions; unique events that cause massive extinctions and replacements of communities. The key role of parasites and diseases in structuring the diversity of ecological communities and in ecosystem function has been recently highlighted (see Dobson, 1999), and the importance of parasites and diseases in population dynamics is increasingly acknowledged worldwide (McCallum & Dobson, 1995). Epidemics could have a dramatic effect on small and fragmented populations causing their extinction, while endemic parasites play a basic role in population regulation and to maintain the diversity of natural communities.

#### 4. The Alps, changing environments and biodiversity

The Alps exhibit an impressive variety of habitat and climatic conditions along reduced spatial scales, reflecting a complex physical history, and have a long history of human presence and exploitation. The Alps are a centre of biodiversity for the whole of Europe. They host about 4,500 plant species, more than a third of the flora recorded in Europe west of Urals, and almost 400 plants are endemic of the Alps (Theurillat, 1995). The fauna of the Alps might reach 30,000 species.

Human activity has modified the landscape and biodiversity of the Alps into what they are

at present. A large part of the biodiversity of the Alps is therefore linked to artificial or semi-natural environments, and to traditional land-use. In the last few decades, changes in society, tourism, and agricultural production methods have led to substantial changes in land-use systems, including both intensification of exploitation in some areas and abandonment of traditional practices.

These changes have led to the disappearance of many traditionally managed grassland areas throughout the Alpine region (Bätzing, 1990), with a loss of landscape diversity.

Abandonment results especially in the expansion of forests and shrubby ecotones in secondary grasslands but also in an expansion of dwarf shrubs in the pastures above the timberline.

Land-use systems affect the pattern and diversity of vegetation (Cernusca *et al.*, 1992; Tappeiner & Cernusca, 1993) and fauna (Tschardt & Greiler, 1995). Animal species differ widely in their vulnerability to current threats and disturbance, and in their ability to exploit the new opportunities. Communities are more resilient to threats if they have faced similar challenges in the past. Human activity acts as a major extinction filter, and extinction is lowest in the longest settled, most disturbed areas, because losses already occurred in the distant past (Balmford, 1996).

On the Alps, forces of change result from environmental and social events at different scales. At the local scale, urbanization, development of local tourism, agriculture and grazing, intensification, abandonment, habitat fragmentation, introduction or persecution of species, water use and water pollution are the main forces of change. The processes at a global scale are driven by climate change, air pollution, enrichment in CO<sub>2</sub> and nitrogen deposition, but also by economic, social and cultural processes originating outside the Alps (*e.g.* market forces, fluctuation in tourism, traffic, demographic change). These external forces are especially dangerous, because a local feedback response cannot be activated (Chapin & Körner, 1994).

In the mountains, an important role in determining the local occurrence of species is also played by climate heterogeneity resulting from topographical complexity. The great ecological diversification of the Alps, and the adaptation of most species to a variable climate, should counterbalance the increase of 1-2°C foreseen in the minimum scenario of the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC).

With a greater increase in temperature (3-5°C, maximum IPCC scenario), that is, a temperature range of a whole vegetation belt, many species may need to move to follow their habitats (Theurillat, 1995). The increase in CO<sub>2</sub> could interfere with the relationships between plants and herbivores, since an increase in the C/N ratio in plant tissues results in a decrease of the nutritional value of plants (Körner, 1995). Mowing and livestock grazing are primary factors inhibiting woody plant succession in many areas of the Alps, where the vegetation structure may reflect the long presence of domestic stock. The effects of grazing on biodiversity are complex and controversial, because they are linked to intensity, local conditions and plant communities, type and number of stock, and water availability. Typically, these effects are mitigated by favorable growing seasons and magnified in unfavorable years. A trophic and sanitary interaction has been recorded between wild bovines, and sheep and goats grazing at high altitude. The spread of infectious diseases with consequences for the dynamics and abundance of wild species is related to the virulence of the pathogen, host susceptibility and immune response (Gauthier *et al.*, 1991).

The perturbation of host-parasite interactions may produce different effects at the population level (Grenfell & Dobson, 1995), but the long-term effects of livestock, wildlife and disease management on ecosystems are still unknown. The ubiquitous use of anthelmintics, for instance, may affect decomposer activities (Spratt, 1997).

Land use change, including widespread abandonment of traditional activities in the mountains, has allowed the expansion of forests and related shrubby ecotones, resulting in an increase in suitable habitat both for the ticks and their main hosts, as rodents, shrews, and deer. The incidence of human cases of tick-borne diseases (TBE and Lyme borreliosis) recently recorded in the Italian Alps has been correlated with an increase in the frequency of occurrence and local abundances of *Ixodes ricinus*. A remarkable increase in Roe deer *Capreolus capreolus* density and diffusion has been recorded in most of the Alps in recent years; for example, Roe deer had an impressive resurgence in the Province of Trento, with an increase from 5,350 counted in 1965 to 25,210 in 1994 (Merler *et al.*, 1996; Chemini *et al.*, 1997). In the presence of a relatively small number of reservoir hosts, the large vertebrates can play an important role in maintaining tick

populations and amplifying infections even when they play no part in pathogens multiplication (see Hudson *et al.*, 1995). In fact, results from samples of Roe deer and questing ticks in several game districts of the province of Trento showed a large overlapping of the habitat preference of *I. ricinus* and Roe deer, and a high prevalence of adult tick infestation on Roe deer (75.7% in the altitudinal belt from 600 to 1100 m); (Merler *et al.*, 1996; Chemini *et al.*, 1997). Therefore we can expect changes in density of roe deer to influence tick abundance and perhaps the incidence of some tick-borne diseases. In the Provinces of Trento and Belluno, where most recent cases of TBE in Italy have been detected (Caruso *et al.*, 1997) we found significantly more ticks on bagged Roe deer, and more ticks on standardized drags in the areas where TBE had been positively identified compared with areas where TBE was probable or absent. In addition, more Roe deer were shot in areas where TBE has been recorded compared with areas where TBE was either suspected or has not been recorded (Hudson *et al.*, 2001).

Land use change may also directly influence host-parasite interactions. The increase in ecotonal areas, and habitat fragmentation and shrinking may result in concentration of both individuals and species into restricted areas, promoting transmission and exchange of parasites. Therefore, the importance of disease could increase in shrinking ecosystems, with the emergence of new diseases and increasing numbers of epidemics. Increased pathogenicity of generalist parasites may pose a threat to species with restricted distributions or small populations (Holmes, 1996).

The abandonment of mountain fields and meadows, and the expansion of shrubs and forests with an accompanying reduction of clearings, as well as the intensification of tourism and human presence have caused a decrease in the distribution and abundance of several grassland species, such as Rock partridge *Alectoris graeca*. The actual consistence of this species in the province of Trento is 20% of the estimated potential number (Meriggi *et al.*, 1998), and a tendency to cyclic fluctuations in abundance have been recorded in the dryer part of the province (Cattadori *et al.*, 1999).

Intensity of infection with the nematode parasites *Ascaridia compar* and *Heterakis tenuicauda* was higher in female rock partridge of cyclic populations and studies are now on course to determine whether such parasites may act as destabilizing factors (Rizzoli *et al.*, 1997; 1999).

Reforestation should provide suitable habitats for forest species, but in several cases these forests have become too dense and uniform for some species. The most charismatic and endangered species, the Capercaille *Tetrao urogallus*, needs a structural diversity in forests (Storch, 1993). In the province of Trento, mathematical modelling of forests has shown the relevance of the spatial structure of the canopy, small scale environmental diversity, and under-layer richness for the forest colonization and lek selection by capercaille (Cescatti, 1996). The Provincial forest rangers confront this situation by establishing land-use intervention priorities that meet the needs of the species (Pedrolli, 1996).

The ecological effects of different land-uses on mountain biodiversity were studied within the EU project ECOMONT (Cernusca *et al.*, 1996). A special topic "Plant-Animal Interactions" was integrated into the project to assess the relationships between functional diversity and the different types of land-use, with particular reference to the consequences of grassland abandonment (Bonavita *et al.*, 1999; Guido *et al.*, 1999). Ground- and plant-dwelling arthropods were sampled on three ECOMONT study sites situated along a transect from the Italian to the Austrian Alps: Mount Bondone, Passiria Valley, and Stubai Valley. At each site, sampling was carried out on plots with different land-use practices: intensively managed hay meadows, extensively managed hay meadows, pastures, abandoned grassland with different successional stages, and forests. The land-use affected the local occurrence of arthropods both directly, through the disturbance of mowing and grazing, and indirectly by modifying microclimate, vegetation structure, and above-ground phytomass. Intensive management of hay meadows, consisting of fertilization and mowing, resulted in a higher diversity of primary consumers (Orthoptera). It is possible that the periodic disturbance of mowing resets the system discouraging the establishment of a strong dominance structure. Abandonment fosters a vegetation succession of the meadows, with an increase in the height of the turf, arrival of shrubs, and finally re-colonization by forest. The increase in tree and shrub canopy, and the occurrence of forest patches affected the assemblages of orthopteran and carabid insects, with a decrease in species diversity. Other species receive short-term benefit from abandonment, but in the long-term the re-colonization by for-

est causes the almost complete disappearance of the recorded species (Guido *et al.*, *in press*). Therefore, the maintenance of the current extensive management system of meadows has particular importance for the conservation of orthopteran assemblages from the Mount Bondone plateau.

Relationships between land use and diversity patterns of plants, fungi and arthropods were studied in four forest sites on the Provinces of Bolzano and Trento (Italian Alps) within the International Cooperative Programme on Integrated Monitoring ICP/IM (Bonavita *et al.*, 1998). A total of 2,351 species were identified. The species richness was far greater (77% of identified species) in the lower and more stressed belt (stands at 560 and 680 m a.s.l.) subject to a series of disturbances and changes in land use, related to grazing, clear-cutting, reforestation, and tourism. The natural decline in species richness with increasing altitude is a general pattern well known in the Alps (Meyer and Thaler, 1995), and these data confirm that a large part of species diversity co-occur with a heavy human presence and land management.

### 5. The future: a chance for research

The conservation and the sustainable use of biodiversity - creating the conditions of its continuity for the future generations - is indicated as one of the major challenges for humankind in the next millennium (Catizzone *et al.*, 1998). The functioning of ecosystems, production of food for all human beings, use of genetic resources, economic productions, and human wellbeing, would be dramatically affected by a loss of diversity below a minimum threshold. We know that ecosystem services are essential to civilization, and that very large numbers of plant and animal species and populations are required to sustain ecosystem services (Lubchenco, 1998). At the same time, we know embarrassingly little about the relationship between species diversity and ecosystem function (Huenneke, 1994).

Diversity will be a challenge (and a chance) for research too. Biodiversity needs and fosters a scientific synthesis of ecological, evolutionary, systematic, biogeographical, genetic, and paleontological studies.

Biodiversity provides a common ground for all these disciplines, from which a better understanding of the natural world will develop (Schluter & Ricklefs, 1993). Ecological research should consider and value the existing large body of biodiversity inventory data, pro-

vide indices and indicators, look for general diversity patterns, and consider diversity in ecosystem function modelling. In addition, it should disseminate the results to respond also to the need of end users, such as conservationists, educators, farmers and planners (Chemini, 1999). Also the study of infectious diseases in wildlife and domestic livestock cannot prescind from an integrated ecological approach (Dobson, 1999).

Many authors underline the need for a new paradigm for research, based on an interdisciplinary approach and taking into consideration ecological economics and a dialogue between different interests and different actors (scientists, end-users, decision-makers) that often have conflicting interests with regard to biodiversity (Catizzone *et al.*, 1998).

The Alps are a symbolic territory to implement this new research paradigm. Human activity will continue to be the one of the greatest forces of change in the mountains of Europe in the coming decades (Chapin & Körner, 1994; Backmeroff *et al.*, 1997). In the Alps, the long traditional integration of the human dimensions with the physical-chemical-biological dimensions needs to find a new equilibrium. Preservation of biodiversity cannot be pursued only with the protection of single species, or habitats, or foundation of reserves. Biodiversity is interlinked with human land use. The maintenance of cultural landscapes and their biodiversity also depends on keeping humans in the mountains and on appropriate management practices, resulting from an integrated and multiple-use management of the territory. Preservation plans should consider also the "quality" of diversity, with particular attention to rare and endangered species and habitats, and endemism.

Laws and regulations, economic instruments and incentives, education and training, should all enhance the social and economic incentives to preserve biodiversity, identify and reduce conflicts at different scales, and build up a large consensus on the value of biological diversity, taking into account the ecosystem services provided by Alpine areas to the entire national community (Backmeroff *et al.*, 1997), and ensuring the sustainability of present levels of life and landscape heterogeneity.

## References

BACKMEROFF C., CHEMINI C. & LA SPADA P. (Eds.), (1997) - *European inter-governmental consultation on sustainable mountain development*. Proceedings of the final Trento session. Trento (Italy), 7-11 October

1996. Provincia Autonoma di Trento and Centro di Ecologia Alpina, 256 pp.
- BALMFORD A. (1996) - Extinction filters and current resilience: the significance of past selection pressures for conservation biology. *Trends Ecol. Evol.*, 11: 193-196.
- BÄTZING W. (1990) - *Der italienische Alpenraum*. CIPRA, Kleine Schriften, 7/90.
- BENGTSSON J., JONES H. & SETÄLÄ H. (1997) - The value of biodiversity. *Trends Ecol. Evol.*, 12: 334-336.
- BONAVITA P., CHEMINI C., AMBROSI P., MINERBI S., SALVADORI C. & FURLANELLO C. (1998) - Biodiversity and stress level in four forests of the Italian Alps. *Chemosphere*, 36: 1055-1060.
- BONAVITA P., GUIDO M. & CHEMINI C. (1999) - *Patterns of consumer diversity under different land-use practices along the alpine transect*. In Cernusca A., Tappeiner U. & Bayfield N. (Eds.), *Land-use changes in European mountain ecosystems*. ECOMONT - Concepts and results. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin.
- CARUSO G., MONDARDINI V., GRANATA C., MEL R., MARCOLINA D., BENTIVEGNA S., RUSSINO F., PERINI G., CHEMINI C., BENEDETTI P., ZARATTINI A. & CIUFOLINI M. G. (1997) - Risultati di un'indagine virologica e sieroepidemiologica sull'infezione da TBE virus (TBEV) in provincia di Belluno. *Giom. It. Mal. Inf.*, 3 (1): 50-52.
- CATIZZONE M., LARSSON T.-B. & SVENSSON L. (Eds.) (1998) - *Understanding Biodiversity*. An agenda for research into biodiversity prepared by the European Working Group on Research and Biodiversity. European Commission Ecosystems Report 25, EUR 18444 EN.
- CATTADORI I. M., HUDSON P. J., MERLER S. & RIZZOLI A. (1999) - Synchrony, scale and temporal dynamics of rock partridge (*Alectoris graeca saxatilis*) populations in the Dolomites. *J. Anim. Ecol.*, 68: 540-549.
- CERNUSCA A., TAPPEINER U., AGOSTINI A., BAHN M., BEZZI A., EGGER R., KOFLER R., NEWSELY C., ORLANDI D., PROCK S., SCHATZ H. & SCHATZ I. (1992) - Ecosystem research on mixed grassland/woodland ecosystems. First results of the EC-STEP-project INTEGRALP on Mt. Bondone. *Studi Trent. Sci. Nat. (Acta biol.)*, 67: 99-133.
- CERNUSCA A., TAPPEINER U., BAHN M., BAYFIELD N., CHEMINI C., FILLAT F., GRABER W., ROSSET M., SIEGWOLF R. & TENHUNEN J. (1996) - ECOMONT: ecological effects of land use changes on European terrestrial mountain ecosystems. *Pirineos*, 147-148: 145-172.
- CESCATTI A. (1996) - Computer based analysis of the forest stands in capercaillie leks. *Report Centro Ecologia Alpina*, 4: 21-63.
- CHAPIN F. S. & KÖRNER C. (1994) - Arctic and alpine biodiversity: patterns, causes and ecosystem consequences. *Trends Ecol. Evol.*, 9: 45-47.
- CHEMINI C. (1999) - Richness of regional and local faunas, faunulas; species richness of different taxa in catches or other samples. *European Science Foundation, Alpnet News*, 1: 11-12.
- CHEMINI C., RIZZOLI A., MERLER S., FURLANELLO C. &

- GENCHI C. (1997) - *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) infestation on Roe deer (*Capreolus Capreolus* L.) in Trentino, Italian Alps. *Parassitologia*, 39(1): 59-63.
- COSTANZA R., D'ARGE R., DE GROOT R., FARBER S., GRASSO M., HANNON B., LIMBURG K., NAEEM S., O'NEILL R., PARUELO J., RASKIN R., SUTTON P. & VAN DER BELT M. (1997) - The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature*, 387: 253-260.
- DOBSON A. P. (1999) - The role of parasites in ecological systems. In Farina A. (Ed.), *Perspectives in ecology: a glance from the VII International Congress of Ecology* (Florence 19-25 July 1998). Backhuys Publishers, Leiden: 51-64.
- GAUTHIER D., GIBERT P. & HARS J. (1991) - Sanitary consequences of mountain cattle breeding on wild ungulates. *Ongulés/Ungulates '91. Intern. Symp., Ed. S.F.E.M.P.-I.R.G.M., Paris-Toulouse*: 621-630.
- GRENFELL B. T. & DOBSON A. P. (eds.) (1995) - *Ecology of infectious diseases in natural populations*. Cambridge University Press, 521 pp..
- GUIDO M., BONAVITA P. & CHEMINI C. (1999) - Effects of land-use changes on animal diversity and plant-animal interactions. In CERNUSCA A., Tappeiner U., Bayfield N. (Eds.): *Land-use changes in european mountain ecosystems*. ECOMONT - Concepts and results. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin.
- GUIDO M., BATTISTI A. & CHEMINI C., In press - *Effects of land-use changes on Orthoptera assemblages from Monte Bondone* (Southern Alps, Italy). Redia.
- HOLMES J. C. (1996) - Parasites as threats to biodiversity in shrinking ecosystems. *Biodiversity & Conservation*, 5: 975-983.
- HUDSON P. J., NORMAN R., LAURENSEN M. K., NEWBORN D., GAUNT M., REID H., GOULD E., BOWERS R. & DOBSON A. P. (1995) - Persistence and transmission of tick-borne viruses: *Ixodes ricinus* and louping-ill virus in red grouse populations. *Parasitology*, 111: 49-58.
- HUDSON P. J., RIZZOLI A., ROSA R., CHEMINI C., JONES L. D. & GOULD E. A. (2001) - Tick-borne encephalitis virus in northern Italy: molecular analysis, relationships with density and seasonal dynamics of *Ixodes ricinus*. *Medical & veterinary entomology*, 15(3):304-313
- HUENNEKE L. F., 1994 - Redundancy in natural systems. *Trends Ecol. Evol.*, 9: 76.
- JOHNSON K. H., VOGT K. A., CLARK H. J., SCHMITZ O. J. & VOGT, D. J. (1996) - Biodiversity and the productivity and stability of ecosystems. *Trends Ecol. Evol.*, 11: 372-377.
- KÖRNER C. (1995) - Impact of atmospheric changes on alpine vegetation: the ecophysiological perspective. In Guisan A., Holten J. I., Spichiger R., Tessier L. (Eds.), *Potential ecological impacts of climate change in the alps and fennoscandian mountains*. Ed. Conserv. Jard. Bot. Genève: 113-120.
- LUBCHENCO J. (1998) - Entering the Century of the environment: a new social contract for science. *Science*, 279: 491-497.
- MACARTHUR R. (1955) - Fluctuations of animal populations and a measure of community stability. *Ecology*, 36: 533-536.
- MCCALLUM H. & DOBSON A. (1995) - Detecting disease and parasite threats to endangered species and ecosystems. *Trends Ecol. Evol.*, 10: 190-194.
- MEYER E., THALER K. (1995) - Animal diversity at high altitudes in the Austrian Central Alps. In Chapin F. S. And Körner C. (Eds.): *Arctic and Alpine Biodiversity*, *Ecological studies*, vol. 113, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg: 97-108.
- MERIGGI A., PANDINI W., SACCHI O., ZILIANI U. & FERLONI M. (1998) - Fattori influenzanti la presenza e la dinamica di popolazione della coturnice (*Alectoris graeca saxatilis*) in Trentino. *Report Centro Ecologia Alpina*, 15: 5-36.
- MERLER S., FURLANELLO C., CHEMINI C. & NICOLINI G. (1996) - Classification tree methods for analysis of mesoscale distribution of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in Trentino, Italian Alps. *J. Med. Entomol.*, 33: 888-893.
- PEDROLI M. (1996) - Structural characteristics and forest management of capercaillie leks (*Tetrao urogallus* L.). *Report Centro Ecologia Alpina*, 4: 1-3.
- RITCHIE M. E. & OLFF H. (1999) - Spatial scaling laws yield a synthetic theory of biodiversity. *Nature*, 400: 557-560.
- RIZZOLI A., MANFREDI M. T., ROSSO F., ROSÀ R., CATTADORI I. M. & HUDSON P. J. (1997) - A survey to identify the important macroparasites of rock partridge (*Alectoris graeca saxatilis*) in Trentino, Italy. *Parassitologia*, 39: 331-334.
- RIZZOLI A., MANFREDI M. T., ROSSO F., ROSÀ R., CATTADORI I. M. & HUDSON P. J. (1999) - Intensity of nematode infections in cyclic and non cyclic rock partridge (*Alectoris graeca saxatilis*) populations. *Parassitologia*, 41.
- SCHLUTER D. & RICKLEFS R. E. (1993) - Species diversity: an introduction to the problem. In Schluter D., Ricklefs R. E. (Eds.): *Species diversity in ecological communities: historical and geographical perspectives*. The University of Chicago Press: 1-10.
- SCHULZE E.-D. & MOONEY H. A. (eds.) (1993) - *Biodiversity and ecosystem function*. Ecological Studies 99, Springer-Verlag, 525 pp.
- SPRATT D. M. (1997) - Endoparasite control strategies: implications for biodiversity of native fauna. *Inter. J. for Parasitol.*, 27 (2): 173-180.
- STORCH I. (1993) - Habitat selection by capercaillie in summer and autumn: is bilberry important? *Oecologia*, 95: 257-265.
- TAPPEINER U. & CERNUSCA A. (1993) - Alpine meadows and pastures after abandonment. Results of the Austrian MaB-programme and the EC-Step project Integralp. *Pirineos*, 141-142: 97-118.
- THEURILLAT J.-P. (1995) - Climate change and the alpine flora: some perspectives. In Guisan A., Holten J. I., Spichiger R., Tessier L. (Eds.): *Potential ecological impacts of climate change in the Alps and Fennoscandian mountains*, Ed. Conserv. Jard. Bot. Genève: 121-127.
- TSCHARNTKE T. & GREILER H. J. (1995) - Insect communities, grasses, and grasslands. *Ann. Rev. Entomol.*, 40: 535-558.



# EFFECTS OF CLIMATE CHANGE ON THE ALPINE AND NIVAL VEGETATION OF THE ALPS

Pauli H., Gottfried M., Grabherr G.

Department of Vegetation Ecology and Conservation Biology, Institute of Plant Physiology, University of Vienna, Althanstrasse 14, A-1090 Wien, Austria

**Abstract** - The Alps still comprise the largest natural and semi-natural environments in Central Europe, but even the remotest alpine regions may face drastic changes due to human-induced climate warming. The glaciers of the Alps respond to the ongoing temperature increase of about 1-2°C since the 19th century with a drastic shrinkage. The high mountain vegetation is generally considered to be particularly vulnerable to climate change. Therefore, this vegetation can be used as a sensitive "ecological indicator" for climate change effects. An upward movement of high mountain plants was empirically determined at subnival and nival summits (most of them exceeding 3000 m), but no such evidence is available for the lower vegetation belts. Plants will respond to climate change in different ways even at their upper limits, due to different preferences to topographically determined habitats. This resulted from a transect study with detailed field records and fine-scaled distribution models. In addition, the ecophysiological constitution of alpine and subnival plants, their propagation ability, and their life history will be crucial for vegetation dynamics in future warmer climates. The risks of climate-induced upward migration processes of plants include drastic area losses or even extinction of cryophilous plants, a disintegration of current vegetation patterns, and impacts on the stability of high mountain ecosystems.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 9 - 12

## 1. Introduction

The Alps still provide by far the largest part of natural or semi-natural environments in central Europe, in spite of the long tradition in high mountain agriculture and the increasing pressure from tourism. On the other hand, high mountain ecosystems are generally considered to be particularly vulnerable to climatic changes (Markham *et al.*, 1993; Beniston, 1994). Therefore, even the uppermost and the remotest regions of the Alps may face drastic changes, induced by a human-induced increase of atmospheric temperature. Among the clearest responses to the ongoing climate warming, which amounts to an increase of about 1-2°C since the 19th century in the Austrian Alps (Auer *et al.*, 1996), is the dramatic shrinkage of glaciers. The total loss of the Alpine surface ice mass since 1850 has been reduced to about half of the original value (Haerberli & Hoelzle, 1995). The disappearance of glaciers is likely to induce additional erosion problems, large debris flows, and increased sediment loads in rivers. Furthermore, permafrost degradation can have long-term impacts on frost weathering and rockfall activity (Haerberli, 1995).

The following scenario was drawn for the high mountain vegetation: plant species responding to higher temperatures may migrate upwards and cause serious restrictions of the narrow pri-

marily temperature determined vegetation belts in mountain regions. Particularly the upper vegetation zones will be threatened if plants from lower belts shift upwards (Peters and Darling, 1985; Ozenda and Borel, 1991).

The low-temperature determined high mountain ecosystems gained increased scientific interest in climate change research (compare Guisan *et al.*, 1995; Beniston & Fox, 1996; Becker & Bugmann, 1997; Price & Barry, 1997). High mountain vegetation can be used as a sensitive "ecological indicator" of climate change effects, because it is of low biotic complexity, and abiotic factors, particularly climate, dominates over biotic factors, such as competition. Therefore, climate change impacts on alpine and nival vegetation may be more pronounced than on vegetation at lower altitudes. In addition, impacts of human land use, which could mask climate-related signals, are largely negligible.

Finally, most high mountain plants of the Alps are long-lived and slow-growing. Hence, climate-induced changes of vegetation patterns are likely to be a consequence of long-term climate changes, lasting over decades, rather than being a consequence of short term climatic oscillations. Therefore, effective quantification of climate change effects on these plants require long-term monitoring.

## 2. Evidence of climate change-induced plant migrations

Historical data on the flora of subnival and nival summits of the Alps (most of them exceeding 3000 m), dating from between 1835 and 1953 provided unique reference material for the study of climate-related changes of the vascular plant distribution. Evidence of an already ongoing upward movement of vascular plants within the uppermost vegetation zone was empirically determined by a comparison of these historical data with recent investigations from the same mountain peaks (for methods and details of the results see Gottfried *et al.*, 1994; Grabherr *et al.*, 1994, 1995, 1999; Pauli *et al.*, 1996, 1997). Overall, 70 per cent of the 30 summits investigated showed a distinct increase in species richness as a result of invaders from lower altitudes. The number of species at the remaining nine summits was the same or slightly lower as recorded in the historical investigation.

The rates of upward movement were highly related to the geomorphological shape of the summit areas. The peaks with the highest increase in species richness have solid and structured ridges with numerous stable microhabitats for plants to establish. Furthermore, these peaks have more or less uninterrupted corridors, colonised with plants, stretching from the alpine grassland belt upwards to the summits. In contrast, most summits with a stagnating or slightly decreasing species richness are dominated by unstable screes, where permanent habitats are reduced by the high frequency of disturbance events.

For the subalpine and alpine belt of the Alps, no empirical evidences on recent upward migrations are available – due to the lack of appropriate historical reference data. The timberline was even lowered by 150-400 m with respect to its postglacial thermal optimum in response to human activities such as alpine pasturing. It has not moved upwards again, according to a case study in Switzerland (Hättenschwiler and Körner, 1995). Holtmeier (1994) suggests, that at least 100 years of thermal conditions more favourable than at present would be needed for a timberline advance.

## 3. Vegetation patterns of the high Alps in future climates

An extensive transect study at the transition zone between the closed alpine grassland and the open and scattered nival vegetation (the alpine-nival ecotone; at Schrankogel, Tyrol)

showed that vascular plants close to their altitudinal limits are not randomly distributed: they follow distinct ecological gradients. Species as well as plant assemblages can be related to topographically determined gradients of disturbance (such as debris falls and substrate movements) and snow cover. Particularly species of alpine and subnival grassland (i. e. of *Carex curvula*-swards and pioneer swards), being able to create a closed vegetation cover and so enhance soil formation, are sensitive to both disturbance and a long lasting snow cover. Therefore, migration corridors for climate warming-induced upward migrations of alpine grassland species will be restricted to "stepping stones" at stable and rocky ridges. These alpine plants will only have a chance to establish at new unstable sites, when both snow cover and disturbance are reduced as a consequence of climate warming. The latter, however, may even be enhanced at many high sites of the Alps due to an increased frost weathering because of permafrost degradation (Haeberli, 1995). Frost-sensitive but disturbance-tolerant snow bed species, on the other hand, may suffer area losses due to a climate change-induced reduction of the snow cover period (for further details see Pauli *et al.*, 1999b).

A spatial distribution model of vascular plant species and assemblages at the alpine nival ecotone, based on field observations at Schrankogel and on a fine-scaled Digital Terrain Model, yields similar patterns (Gottfried *et al.*, 1998). The modelled distribution patterns show that sward-forming alpine grassland species are concentrated at the ridges, whereas typical species of the uppermost vegetation belt extend into the unstable scree area; snow bed species are restricted to scree-dominated sites.

This spatial distribution model was used to calculate distribution scenarios for predicted temperature regimes, by assuming an altitudinal temperature gradient of  $-0.95^{\circ}\text{C}$  per 100 m (resulting from recent temperature measurements at Schrankogel; Gottfried *et al.*, 1999). The model predicts a disintegration of the cryophilous subnival flora into small patches "trapped" in habitats with extreme terrain conditions, by the invasion of alpine species.

Apart from topographically determined habitat preferences, the fate of the alpine and subnival plants as winners or losers in future habitat conditions with increased temperature and elevated atmospheric  $\text{CO}_2$  will also depend on the ecophysiological responses of individual

species. Körner (1995) mentioned that the indirect effects of rising temperature (e.g. the length of the snow free period) are more important than direct temperature effects on life processes. For elevated CO<sub>2</sub>, there is still no evidence that late successional alpine species will grow faster, but it can be expected that elevated CO<sub>2</sub> will increase the C/N ratio in the biomass. This would lead to reduced food quality for herbivores and to alterations in decomposition processes (Körner, 1995). In addition, an increased deposition of soluble nitrogen in alpine ecosystems will stimulate growth of some species and discriminate others, hence species composition is likely to change (Körner, 1995).

Overall, the life history strategies of alpine and subnival plants (e.g. ecophysiological constitution, propagation ability) will be crucial for vegetation dynamics in future warmer climates. Although studies on plant adaptations in alpine climates (e.g. Larcher, 1983; Körner and Larcher, 1988), experimental studies on plant responses to atmospheric changes (e.g. Körner *et al.*, 1997; Arnone and Körner, 1997) as well as studies on the propagation of alpine plants (e.g. Hartmann, 1957) are available, a satisfying classification of species or species groups based on key functional traits is still lacking.

#### 4. Risks of climate change-induced impacts on the vegetation of the Alps

A drastic decrease of the distribution area or even extinctions of cryophilous species can be the consequence of migration processes towards higher altitudes. Rates and patterns of these dynamics, however, will be highly dependent on the habitat preferences of particular species and their key functional traits. Due to the slow growing nature of many alpine species, particularly of sward-forming grassland species like *Carex curvula* All., a remarkable time lag between climate warming and migration responses can be expected (compare Grabherr, 1989; Grabherr *et al.*, 1995). Therefore, serious threats for the subnival biodiversity may not become evident within the next decades. Nevertheless, many endemic species of the Alps are concentrated in relict areas of isolated lower mountain ranges of the outer Alps (Pawlowski, 1970). Endemics with a narrow altitudinal distribution area close to the summits (e. g. *Draba sauteri* Hoppe, *D. stellata* Jacq.) may be among the first species pushed into the greenhouse trap for ever (Grabherr *et al.*, 1995).

In addition, migration processes will cause a disintegration of the present vegetation patterns (Gottfried *et al.*, 1999). This could seriously impact the stability of alpine environments, at least in a long term perspective, for example by generating unstable transition zones with largely unpredictable behaviour.

Therefore, the current signals of an already ongoing response to climate warming should be treated as serious warnings. Further research initiatives in high mountain environments, with international and interdisciplinary cooperation (e.g. Becker & Bugmann, 1997; Pauli *et al.*, 1999a), including long-term monitoring, ecophysiological and phenological studies, as well as predictive modelling, are needed to establish an effective early warning system.

#### 5. Acknowledgements

The comparison study on the flora of high summits in the Alps and the transect study at the alpine-nival ecotone of Schrankogel was financed by the Austrian Academy of Sciences within the framework of the International Geosphere-Biosphere Programme. Additional support came from the Austrian Federal Ministry of Science and Transport. Thanks to Max Abensperg-Traun for linguistic remarks on the manuscript.

#### References

- ARNONE J. A. & KÖRNER C. (1997) - Temperature adaptation and acclimation potential of leaf dark respiration in two species of *Ranunculus* from warm and cold habitats. *Arctic and Alpine Research*, 29: 122-125.
- AUER I., BÖHM R. & MOHNL H. (1996) - Übersicht über aktuelle Arbeiten der Wiener Arbeitsgruppe für klimatologische Zeitreihenanalyse. ÖGM - Österreichische Gesellschaft für Meteorologie, *Bulletin*, 96/1.
- BECKER A. & BUGMANN H., (eds.) (1997) - *Predicting global change impacts on mountain hydrology and ecology: integrated catchment hydrology/altitudinal gradient studies*. Workshop Report. IGBP Report 43. Stockholm, 61 pp.
- BENISTON M. (ed.) (1994) - *Mountain environments in changing climates*. Routledge, London, 461 pp.
- BENISTON M. & FOX D. G. (eds.) (1996) - Impacts of climate change on mountain regions. In Watson R. T., M. C. Zinyowera and R. H. Moss (Eds.), *Climate change 1995. Impacts, adaptations and mitigation of climate change: scientific-technical analysis*. Cambridge University Press, Cambridge: 191-213.
- GOTTFRIED M., PAULI H. & GRABHERR G. (1994) - Die Alpen im "Treibhaus": Nachweise für das erwärmungsbedingte Höhersteigen der alpinen und nivalen Vegetation. *Jahrbuch des Vereins zum Schutz der Bergwelt, München*, 59: 13-27.

- GOTTFRIED M., PAULI H. & GRABHERR G. (1998) - Prediction of vegetation patterns at the limits of plant life: A new view of the alpine-nival ecotone. *Arctic and Alpine Research*, 30: 207-221.
- GOTTFRIED M., PAULI H., REITER K. & GRABHERR G. (1999) - A fine-scaled predictive model for changes in species distributions patterns of high mountain plants induced by climate warming. *Diversity and Distributions*, 5(6):241-252.
- GRABHERR G. (1989) - On community structure in high alpine grasslands. *Vegetatio*, 83: 223-227.
- GRABHERR G., GOTTFRIED M. & PAULI H. (1994) - Climate effects on mountain plants. *Nature*, 369: 448.
- GRABHERR G., GOTTFRIED M., GRUBER A. & PAULI H. (1995) - Patterns and current changes in alpine plant diversity. In Chapin III, F. S. and C. Körner (eds.), *Arctic and alpine biodiversity: patterns, causes and ecosystem consequences*, *Ecological Studies*, 113, Springer, Berlin: 167-181.
- GRABHERR G., GOTTFRIED M. & PAULI H. (1999) - Long term monitoring of mountain peaks in the Alps. In Burga, C. and A. Kratochwil (eds.), *Vegetation monitoring/global change*, Tasks for Vegetation Science, Kluwer, Dordrecht.
- GUIGAN A., HOLTEN J. I., SPICHTIGER R. & TESSIER L., (eds.) (1995) - *Potential ecological impacts of climate change in the Alps and Fennoscandian mountains*, Ed. Conservatoire et Jardin Botaniques de Genève, 194 pp.
- HAEBERLI W. (1995) - *Climate change impacts on glaciers and permafrost*. In Guisan A., J.I. Holten, R. Spichiger and L. Tessier (Eds.), *Potential ecological impacts of climate change in the Alps and Fennoscandian mountains*, Ed. Conservatoire et Jardin Botaniques de Genève: 97-103.
- HAEBERLI W. & HOELZLE M. (1995) - Application of inventory data for estimating characteristics of and regional climate-change effects on mountain glaciers: a pilot study with the European Alps. *Int. Glaciological Society, Annals of Glaciology*, 21: 206-212.
- HARTMANN H. (1957) - Studien über die vegetative Fortpflanzung in den Hochalpen - Die verschiedenen Formen der vegetativen Fortpflanzung und ihre Bedeutung für die Erhaltung der Arten und für die Strukturbildung in der Vegetationsdecke im Bereich des Carex-Elyna-Vegetationsgürtels. *Jahresbericht d. Naturforsch. Ges. Graubündens, Neue Folge Bd. LXXXVI*: 1-168.
- HÄTTENSCHWILER S. & KÖRNER C. (1995) - Responses to recent climate warming of *Pinus sylvestris* and *Pinus cembra* within their montane transition zone in the Swiss Alps. *J. Veg. Sci.*, 6: 357-68.
- HOLTMEIER F.-K. (1994) - Ecological aspects of climatically-caused timberline fluctuations: review and outlook. In Beniston M. (ed.), *Mountain environments in changing climates*, Routledge, London: 220-233.
- KÖRNER C. (1995) - Impact of atmospheric changes on alpine vegetation: the ecophysiological perspective. In Guisan A., J.I. Holten, R. Spichiger and L. Tessier (eds.), *Potential ecological impacts of climate change in the Alps and Fennoscandian mountains*, Ed. Conservatoire et Jardin Botaniques de Genève: 113-120.
- KÖRNER C. & LARCHER W. (1988) - Plant life in cold climates. In Long S. F. and F. I. Woodward (eds.), *Plant and temperature*, *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 42, The Company of Biologists, Cambridge: 25-57.
- KÖRNER C., DIEMER M., SCHÄPPI B., NIKLAUS P. & ARNONE J. (1997) - The responses of alpine grassland to four seasons of CO<sub>2</sub> enrichment: a synthesis. *Acta Oecologica*, 18: 165-175.
- LARCHER W. (1983) - Ökophysiologische Konstitutionseigenschaften von Gebirgspflanzen. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.*, 96: 73-85.
- MARKHAM A., DUDLEY N. & STOLTON S. (1993) - *Some like it hot: climate change, biodiversity and the survival of species*. WWF-International, Gland, 144 pp.
- OZENDA P. & BOREL J.-L. (1991) - *Mögliche ökologische Auswirkungen von Klimaveränderungen in den Alpen*. Internationale Alpenschutz-Kommission CIPRA, Kleine Schriften 8/91, 71 pp.
- PAULI H., GOTTFRIED M. & GRABHERR G. (1996) - Effects of climate change on mountain ecosystems - upward shifting of alpine plants. *World Resource Review*, 8: 382-390.
- PAULI H., GOTTFRIED M. & GRABHERR G. (1997) - Auswirkungen der globalen Klimaerwärmung auf die Nivalvegetation der Alpen. *Bericht über die 2. Pflanzensoziologische Tagung "Pflanzengesellschaften im Alpenraum und ihre Bedeutung für die Bewirtschaftung"*, BAL Gumpenstein: 35-39.
- PAULI H., GOTTFRIED M. & GRABHERR G. (1999a) - A global indicator network for climate change effects on the vegetation in high mountain ecosystems - proposals from an Austrian IGBP/GCTE-research initiative. In Price M. F, T. H. Mather and E. C. Robertson (eds.), *Global Change in the Mountains*, Parthenon, New York: 25-28.
- PAULI H., GOTTFRIED M. & GRABHERR G. (1999b) - Vascular plant distribution patterns at the low-temperature limits of plant life - the alpine-nival ecotone of Mount Schrankogel (Tyrol, Austria). *Phytocoenologia*.
- PAWLOWSKY B. (1970) - Remarques sur l'endémisme dans la flore des Alpes et des Carpates. *Vegetatio*, 21: 181-243.
- PETERS R. L. & DARLING J. D. S. (1985) - The greenhouse effect and nature reserves: global warming would diminish biological diversity by causing extinctions among reserve species. *Bioscience*, 35: 707-717.
- PRICE M. F. & BARRY R. G. (1997) - Climate change. In B. Messerli and J. D. Ives (eds.), *Mountains of the World*, Parthenon, New York: 409-445.

# RESULTS FROM THE USE OF A SYSTEM OF “REST ROTATIONAL GRAZING” FOR LIVESTOCK TO IMPROVE WILDLIFE HABITAT IN MONTANA

Mccarthy J. J.

Wildlife Special Projects Coordinator, Montana Department of Fish Wildlife & Parks, 1420 E. 6th Ave., Helena, Montana 59620

**Abstract** - Rest rotation grazing is a forage management system that utilizes livestock grazing to improve forage vigor, reduce erosion and improve range conditions. Cyclic movement of livestock through pastures allow plants to carry out photosynthetic processes and assist in seed dissemination and seedling establishment. Elements of such a grazing system are discussed, as are the benefits to plants and soils. An example of a system that has been in operation since 1980 is also described, as are the benefits to livestock producers and the area's wildlife.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 13 - 16

## 1. Introduction

Montana lies within the temperate zone of the north-western United States. The state ranges in elevation from 4,260 meters to 500 meters. It covers 376,555 square kilometers, and is home to 878,810 individuals and a little over 2.6 million cattle. In Montana the co-existence of livestock and wildlife is a fact of life.

Approximately two-thirds of Montana is privately owned, and roughly 65% of the land base in the state is managed as rangeland and pasture (Peterson & Frisina, 1993). Much of the private land, as well as the publicly owned land that comprises the remaining one-third of Montana, serves as pasture for privately owned livestock, while supporting a wide variety of ungulate species. The livestock industry, conservation groups and recreationists are often divided over forage management on public lands, and the use wildlife of private lands by wildlife. The implementation of “rest rotation grazing”, as described by Hormay (1970), where livestock is utilized to improve range or pasture land for wildlife, has provided a partial solution to some of these problems for Montana.

## 2. Elements of “Rest Rotation Grazing”

Rest rotation grazing is a forage management system that, by using livestock, can maintain or improve soil, and the health and composition of vegetation on a site. Improvements are accomplished by “resting” the area from livestock grazing for two growing seasons following intensive grazing during an initial growing season. The “rest” is achieved by the use of fencing that restricts the use of the range to specific sites each year.

Repetition of this rotational cycle over time

allows four processes are to occur:

1) Plants that have been grazed are permitted the opportunity to build their root system and the reserves of carbohydrates in the root system. This in turn allows the plant to become more robust, increases an individual plants likelihood for survival, and increases overall forage production.

2) Seed production and ripening takes place increasing the probability of reproduction of important grass species.

3) Seedlings are given time to become established, which reduces erosion and increases forage production on a site.

4) Organic material accumulates between plants enriching and building soil, while reducing both wind and water erosion.

An example of a grazing formula that provides these basic needs, and the one most commonly used in Montana is a three pasture rest rotation system. (Tab. 1) Under this scenario one pasture is grazed during the early spring and the growing season until the grass seeds are ripe (Early Graze). After seed ripe, the live stock is moved into the second pasture where they will remain until moved to off site winter ranges (Late Graze). The third pasture is “rested” from grazing. This systematic movement of livestock between the three pastures accomplishes the following on an annual basis.

*Early Grazing:* The trampling of accumulated residual growth following a season of rest increases litter between plants and returns organic material to the soil. Studies have also shown that the removal of the residual growth from the previous years rest treatment makes the plants more palatable to wintering elk

**Tab. 1** - Schematic of a typical three pasture rest rotation grazing formula.

Year	Pasture I	Pasture II	Pasture III
One, Four, Seven	Early Graze	Late Graze	Rest
Two, Five, Eight	Late Graze	Rest	Early Graze
Three, Six, Nine	Rest	Early Graze	Late Graze

*Cervus canadensis* and improves forage quality (Anderson & Scherzinger, 1975; Jourdonnais, 1985). It also is more attractive to mule deer *Odocoileus hemionus* and white-tailed deer *Odocoileus virginianus* during the following spring. Early grazing of a pasture often results in a better distribution of forage utilization than later grazing as the upland vegetation remains succulent and attracts livestock off riparian areas. This allows for regrowth of riparian vegetation and puts less grazing pressure on woody vegetation located on or along those sites (Ehrhart & Hansen, 1998)

When livestock are removed from the pasture cooler weather and fall moisture generally result in some regrowth of most grasses and some forbs prior to the plants becoming dormant. This regrowth is then available for wintering wildlife, and serves as nesting cover for gallinaceous and passerine species the next spring.

**Late Grazing:** Turning livestock into the pasture after seed ripe allows the plant to complete a full season of photosynthesis prior to grazing. This results in the plant both producing seed and storing sufficient quantities of food to maintain itself in good condition throughout the winter months. Seeds are subsequently dislodged by the grazing action of the livestock and sown in the soil by trampling, thus increasing the possibilities for seedling establishment the following growing season. The trampling action also increases the litter accumulation between plants and again helps to control erosion and return organic materials to the soil.

**Rest:** A full year of rest following the late grazing treatment allows grasslike plants to again establish additional root growth and store carbohydrates for reproduction and over winter needs. This combination of rest periods helps assure plants will be at full vigor when grazed the following spring. During this treatment residual plant material is accumulated to act as litter for erosion control and soil building materials. This treatment also allows seeds trampled

during the late grazing to become established as seedlings and for additional root growth to take place on seedlings established during earlier treatments. Woody plants benefit through additional leader growth and food storage.

**Management objectives:** Rest-rotation grazing systems have been utilized to accomplish a number of highly variable management objectives within Montana. It is important to note however, that management objective must be established and agreed upon prior to any action taking place on the ground. Without objectives being established, and adhered to, such projects are destined for failure. The objectives must also meet the both the wildlife needs in the area, and as importantly, those of the livestock producer.

Some projects that have been undertaken using rest-rotation grazing systems in Montana include improving elk ranges, reducing the spring use of private lands by reducing the residual vegetation on spring ranges located on public lands, revitalization of under utilized range lands and regeneration of vegetation on over-grazed pastures and riparian areas.

**Monitoring:** In order to determine if the management objectives are being met it is necessary to establish a monitoring program while the management objectives are being developed. Monitoring allows quantitative and qualitative measurement to be made prior to, during and after treatments take place. They serve to determine if objectives are being met and help "sell" the program to other livestock producers and the public.

Monitoring should include an inventory of plant composition and range conditions prior to the establishment of the project. This can be followed up with photo plots and quantitative measurements of forage production, plant composition, litter accumulation and bare soil. Additional information that can be gathered from the stock producer include the weaning weights for young of the year and/or average gain by yearling animals being shipped to market.

Other important measurements include population trends for wild ungulates and/or game birds utilizing the area, and estimated days of use by wildlife prior to and after the project has been established. Another measurement used in Montana is the number of hunter days the area provides the public, and the harvest of wild game and birds taken from the area.

**Stocking rates:** Stocking rates, or the numbers of livestock per hectare grazed, can be determined over time. Experience has shown that the stocking rate on an area is not as critical as the timing of livestock use. Stocking rates should be reflective of the objectives of the project and the economic impacts on the stock owner.

Grazing by unconfined wildlife seldom becomes a factor due to their wider distribution, and less intensive grazing patterns. Also, because grasses are dormant during winter months when wildlife becomes more confined and can intensively graze an area, residual vegetation can be removed without harming the plants. Annual grazing of both forbs and grasses during the early spring growing season can, however, result in lowered plant health and may dramatically decrease annual production on such sites. High numbers of browsing animals such as moose and mule deer, can also negatively affect the woody component of an area and reduce both cover and biomass of forage available. For these reasons managing wildlife populations to keep them in balance with the available forage must also be a key factor in any forage management program.

### 3. Montana Fish Wildlife and Parks & Rest-Rotation Grazing

The Montana Fish Wildlife and Parks (FWP) began to experiment with rest-rotation grazing systems on land we had purchased as elk winter ranges. These "Wildlife Management Areas" (WMA) compose an integral part of Montana's elk management by providing essential winter range for elk where elk had become reliant on private lands for winter forage. FWP holds title to 20 WMAs, which comprise approximately 100,000 hectares, 12, comprising approximately 60,000 hectares, are currently managed using livestock and rest-rotation grazing to maintain or improve forage conditions. In addition to this 10 other systems (35,000 hectares) have been established on lands where FWP has purchased the grazing rights using conservation easements and an additional 72,000 hectares are under rest-rotation grazing

systems to improve habitat for upland bird populations in Montana.

These systems have been established to accomplish three main objectives: *i.* Improved range conditions for wildlife; *ii.* Reduction of depredation to private lands; *iii.* Accommodation of grazing opportunities for both wildlife and livestock.

### 4. Wall Creek WMA

One example of such a system is the Wall Creek WMA. Located in south central Montana within the Madison Mountain Range, the property was purchased in 1961, at which time approximately 250 head of elk were using the area as winter range. After the purchase the area was grazed only by elk until 1980. During that time vegetation on portions of the WMA had become overgrown and less attractive for wintering elk. This resulted in private lands adjacent to the WMA becoming heavily grazed by elk. In 1980 FWP entered into an agreement with private landowners and the U.S. Forest Service to establish a 10 pasture rest rotation system that incorporated the WMA, private lands and federal lands adjacent to the WMA.

The management objectives established for the system were:

- i.* Maintain and enhance the soil and vegetative resource.
- ii.* Provide high-quality winter forage for elk throughout the winter range, regardless of ownership.
- iii.* Alleviate game damage conflicts on private lands by enhancing the desirability of the WMA.
- iv.* Provide spring, summer and fall cattle grazing.

Wall Creek WMA Grazing Formula:

Each year 700 cattle are moved into one of three systems made up of three pastures each. Pastures are arranged along an elevational gradient ranging from 1,860 meters to 3,000 meters. The three low elevation and three mid-elevation pastures provide elk winter range. The highest pastures serve as elk summer range. Cattle begin grazing one of the low-elevation pastures on May 1st. On June 1st, when rapid plant growth begins in the area, the cattle are moved to the mid-elevation pasture where they stay until July 15th, when they are moved to the high elevation pasture until seed ripe. Following seed ripe, which occurs about mid-August, they are moved to the second of the three high elevation pastures. On September 15th they are moved to the mid-

elevation pasture in that system for one week, after which time they are moved to the low-elevation pasture for an additional week. On September 30th they are moved off the area to private lands for the winter.

Management benefits of the system are:

- 1) Approximately 85% of the vegetation produced on the 6 pastures grazed during the summer is available for wintering elk. Between 1,400 and 1,500 elk currently utilize the area.
- 2) During the summer months three of the four pastures used as summer elk range are available to elk without the presence of cattle.
- 3) The periodic removal of residual vegetation has increased the palatability of grass species on the WMA, resulting in less elk depredation to private lands.
- 4) Private landowners are receiving an additional 826 animal months of grazing.
- 5) Better relationships between the FWP, the private stock growers and the U.S. Forest Service.

### 5. Conclusions

This is just one example of how rest rotation grazing systems can be adapted to meet both the summer and wintering needs of wildlife and livestock. The rest rotation grazing system has been used in conjunction with private and public lands, or as a stand alone system on our own lands. It has been adopted to meet the needs of a single landowner on less than 1,400

hectares or to address the grazing needs of multiple parties over with over 6,400 hectares of pastures. In Montana this system has been adapted to meet many different situations, and, as long as one year of grazing during the growing season has been followed by two years of rest, it has addressed a wide variety of forage, and social needs for both Montana's wildlife and livestock.

### References

- ANDERSON, E.W. & SCHERZINGER R.J. (1975) - Improving quality of winter forage for elk by cattle grazing. *Journal of Range Management*, 28(2):120-125
- EHRHART, R.C. & HANSEN P.L. (1998) - *Successful strategies for grazing cattle in riparian zones*. Montana BLM Riparian Technical Bulletin No. 4. USDA Bureau of Land Management, Montana State Office, 48pp
- HORMAY, A.L. (1970) - *Principles of rest-rotation grazing and multiple use land management*. U.S. forest Service Training Text No. 4(2200). U.S. Government Printing Office, 1970, 0 385 056, 25pp
- JOURDONNAIS, C.S. (1985) - *Prescribed fire and cattle grazing influences on the vegetation and elk use of a Rough Fescue Community*. Unpublished Masters Thesis, University of Montana, Missoula, Montana, 100pp
- PETERSON, J. & FRISINA M. (1993) - *Livestock Grazing and Elk in Montana*. Pages 17-18: In J.D. Cada, J.G. Peterson and T.N. Lonner.(Comps), *Proceedings of the Western States and Provinces Elk Workshop*. Mt. Fish Wildlife and Parks, Bozeman, 72pp

# METODI QUANTITATIVI PER LA GESTIONE DELLA FAUNA SELVATICA IN PROVINCIA DI SONDRIO

Gatto M., Paris G., Ranci Ortigosa G., Scherini G.\*

Dipartimento di Elettronica e Informazione, Politecnico di Milano, Via Ponzio 34/5, 20133 Milano

\* Ecostudio Lombardia – Sondrio

**Riassunto** - La presenza e la distribuzione della fauna selvatica nelle Alpi sono influenzate fortemente dall'attività venatoria e dall'utilizzo del territorio ad opera dell'uomo. In tale contesto, una gestione consapevole della fauna selvatica deve basarsi sull'utilizzo di metodologie quantitative che garantiscano la riproducibilità e la trasparenza del processo decisionale. Il fine è quello sia di formulare piani di abbattimento razionali ed elaborare strategie di conservazione delle popolazioni, in particolare di quelle minacciate, sia di individuare aree adatte alla reintroduzione delle specie estinte e di determinare il numero di soggetti da reintrodurre. Tra le metodologie più utilizzate spiccano i modelli di valutazione ambientale e le analisi di dinamica di popolazione. Lo scopo della presente ricerca è valutare l'applicabilità di queste metodologie alla realtà del territorio alpino della Provincia di Sondrio. L'indagine si sviluppa in due sezioni: nella prima, due differenti modelli di valutazione faunistica per il Camoscio (*Rupicapra rupicapra*) sono applicati al comprensorio alpino della Val Chiavenna mediante l'utilizzo di un GIS, confrontando ed analizzando criticamente i risultati ottenuti; nella seconda sezione due modelli demografici, uno per il Camoscio ed uno per il Gallo Forcello (*Tetrao tetrix*), sono applicati ad alcune popolazioni della provincia di Sondrio. Vengono infine illustrati differenti scenari di simulazione, ottenuti considerando diverse strategie di prelievo venatorio.

**Abstract** - **Quantitative methods for wildlife management in the Province of Sondrio (Italy).** Wildlife presence and distribution in the Alps are strongly influenced by human activities. There is a need to develop quantitative tools, based on scientific knowledge, to support consistent management policies of natural populations. Quantitative techniques such as HSI (Habitat Suitability Indices) and PVA (Population Viability Analysis) have been extensively used in wildlife management. The aim of the present research is to apply these tools to the area of Provincia di Sondrio. The study is divided in two different parts: in the first part, we have applied, by means of a GIS, two different habitat suitability models for Chamois (*Rupicapra rupicapra*) to the Val Chiavenna alpine district. Results have been compared and analyzed. In the second one, two demographic models – one for Chamois and one for Black Grouse (*Tetrao tetrix*) – have been applied to several populations established in Provincia di Sondrio. Scenarios originating from different hunting policies have also been outlined for the Black Grouse case-study.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 17 - 26

## 1. Introduzione

Nelle aree alpine i cambiamenti nell'uso del suolo e l'incremento del turismo provocano sensibili variazioni nella distribuzione della fauna selvatica, rendendo gli habitat maggiormente frammentati e meno adatti alle diverse specie (Dobson, 1995). L'utilizzo del territorio, unitamente all'attività venatoria, influenza quindi notevolmente l'abbondanza e la distribuzione della fauna selvatica. In questo senso, nell'arco alpino centrale, la provincia di Sondrio, oggetto di questo contributo, rappresenta un caso emblematico. Il territorio provinciale (3212 km<sup>2</sup>) è prevalentemente montano, dato che il 70% si colloca ad una quota superiore ai 1500 m s.l.m.. Proprio in relazione alle caratteristiche spiccatamente alpine, la pressione turistica è elevata: su 177.298 abitanti (dati ISTAT 1997) sono 105.257 i posti letto disponibili nelle varie strutture ricettive. Tra queste si contano 56 rifugi alpini in cui sono concen-

trati 2.659 posti letto, il 56% dei posti letto in rifugio dell'intera regione Lombardia (dati ISTAT 1996). Il numero di cacciatori è in forte diminuzione: da 4.771 licenze nel 1978 si è giunti a 2.749 nel 1997.

I pochi dati citati sono sufficienti per comprendere come le decisioni di politica venatoria in Provincia di Sondrio costituiscano un tipico esempio di problema gestionale in cui si debbano considerare obiettivi diversi e tra loro contrastanti. Se da un lato si vorrebbe ottenere un prelievo soddisfacente e relativamente costante nel tempo, dall'altro si deve garantire la capacità riproduttiva delle specie cacciate, quindi la conservazione di popolazioni che svolgono un ruolo importante per l'equilibrio degli ecosistemi e che hanno anche un alto valore naturalistico, turistico e ricreativo. In tale contesto, un'attenta gestione della fauna alpina deve, oltre a formulare razionali piani di abbattimento, anche elaborare strategie di con-

servazione che garantiscano la sopravvivenza delle popolazioni, ad esempio tutelando particolari habitat, regolando l'utilizzo antropico del territorio ed, eventualmente, individuando nuove aree adatte alla reintroduzione di specie autoctone non più presenti.

Per affrontare questi problemi è utile ricorrere a metodologie quantitative che garantiscano la riproducibilità e la trasparenza del processo decisionale. In particolare, i modelli matematici sono in grado di individuare e sintetizzare le proprietà comuni ad una moltitudine di singoli casi e di esprimerle in un linguaggio simbolico accessibile ai diversi studiosi (Begon *et al.*, 1986). Bisogna ovviamente sempre tenere conto che i modelli possono aiutare a fare luce sul mondo reale ma non sono la realtà, anzi ogni modello ne descrive approssimativamente solo alcuni aspetti.

Tra le metodologie quantitative più utilizzate nella gestione della fauna selvatica e del territorio le due categorie più importanti sono i modelli di valutazione ambientale e i modelli di dinamica di popolazione.

I modelli di valutazione ambientale (MVA o HSI-Habitat Suitability Indices) mettono in relazione la presenza e l'abbondanza di una specie con le caratteristiche dell'habitat (Morrison *et al.*, 1992). Le variabili che caratterizzano l'habitat adatto ad una specie riguardano tutti quei fattori morfologici, vegetazionali, climatici, trofici, antropici, che determinano, o influenzano, la disponibilità di cibo e di ripari, la possibilità di riprodursi, la qualità dell'ambiente, l'interazione con altre specie, il disturbo causato dall'uomo. La potenziale presenza e abbondanza della specie è espressa dagli indici di vocazionalità, tipicamente in termini di densità potenziale. I risultati di un modello di valutazione faunistica vengono sintetizzati nella carta di vocazionalità faunistica che dà un'indicazione dell'attitudine di un territorio ad ospitare le diverse specie (Spagnesi & Toso, 1990).

La dinamica di una popolazione viene invece studiata attraverso lo sviluppo di modelli demografici, che descrivono i principali processi che regolano la consistenza di una popolazione (natalità, mortalità, emigrazione ed immigrazione). Questi modelli possono essere utilizzati per simulare la dinamica di una popolazione soggetta a prelievo ipotizzando diverse strategie di caccia e per cercare la strategia ottimale, cioè quella che meglio soddisfa i diversi obiettivi considerati (di tipo economico, sociale, ecologico).

Obiettivo del presente contributo è mostrare

come l'applicazione di queste metodologie quantitative alla realtà della Provincia di Sondrio possa fornire valide indicazioni per la gestione della fauna selvatica. In particolare vengono qui considerate due specie alpine presenti in questo territorio: il Gallo Forcello (*Tetrao tetrix*) e il Camoscio (*Rupicapra rupicapra*). Nella prima parte della relazione viene illustrata l'applicazione di due modelli di valutazione ambientale esistenti in letteratura per il Camoscio ad un'area della provincia di Sondrio (Val Chiavenna). Sono, quindi, evidenziate le potenzialità e le limitazioni dell'utilizzo di tali modelli nel contesto del territorio di Sondrio. Nella seconda parte vengono invece illustrati due modelli demografici: uno per il Camoscio e uno per il Gallo Forcello. Quest'ultimo è anche utilizzato per valutare e confrontare diverse possibili politiche di prelievo venatorio.

## 2. Il modello di valutazione ambientale del Camoscio in Val Chiavenna

Due modelli di valutazione ambientale esistenti in letteratura per il Camoscio (Felettig, 1976; Tosi & Pedrotti, 1996) sono stati applicati al comprensorio alpino di Chiavenna. Questa applicazione è stata portata a termine utilizzando il programma VVF - Valutazione della Vocazionalità Faunistica (Ranci Ortigosa *et al.*, 1997), un software specificamente sviluppato per la gestione di modelli di valutazione ambientale e la produzione di carte di vocazionalità faunistica e che interagisce con il GIS (Geographical Information System) Grassland (L.A.S., 1996). Nella costruzione di tali carte un Sistema Informativo Geografico si rivela particolarmente utile in quanto può fornire interattivamente le informazioni ambientali necessarie, elaborare queste informazioni attraverso operazioni topologiche, geometriche e logiche, e visualizzare le carte di vocazionalità così prodotte (Ormsby & Lunetta, 1987; Agee *et al.*, 1989; Roseberry *et al.*, 1994).

Per entrambi i modelli utilizzati nell'applicazione si sono considerate le seguenti variabili ambientali: altitudine, esposizione, pendenza e copertura vegetazionale. Si sono invece trascurate le variabili presenti nei modelli originali che descrivono lo sviluppo superficiale e il grado di rocciosità. Il modello di Felettig (1976) include anche una variabile che esprime la tranquillità della zona considerata. Nella nostra applicazione questa variabile è stata inserita associando il disturbo recato alla specie con la presenza di aree edificate, di strade e di aree sciistiche. Tale disturbo è stato supposto

agire in maniera decrescente all'aumentare della distanza dalle fonti di disturbo.

La tab. 1 illustra il modello di Tosi e Pedrotti (1996) per la determinazione delle aree di estivazione del Camoscio semplificato per la nostra applicazione. A ciascun possibile valore di ogni variabile ambientale viene attribuito un punteggio P di vocazionalità parziale. I punteggi parziali vengono poi sommati per dare il valore complessivo di vocazionalità (HSI). Ad ogni valore dell'HSI è associato poi un valore di densità che potenzialmente l'area può sostenere. Ad esempio, un'area caratterizzata da altitudine pari a 1800 metri s.l.m., esposizione ad est, pendenza di 15° e copertura vegetazionale a mugheto ha un indice di vocazionalità pari a 44, ottenuto sommando i vari punteggi per le singole variabili (17+8+5+14). La densità potenziale di camosci in quest'area risulta essere di 6 capi/100 ha.

La cartografia utilizzata per l'applicazione dei due modelli al comprensorio di Chiavenna è stata la seguente:

- modello altimetrico del terreno (DEM), carta dell'esposizione dei versanti e carta delle pendenze con risoluzione 50 metri;
- carta delle tipologie fisionomico-vegetazionali, scala 1:10.000;
- carta delle aree edificate, delle strade e degli impianti sciistici, scala 1:10.000.

Le due carte di vocazionalità prodotte (Fig. 1) sono state riclassificate in tre classi di vocazionalità (non adatto, adatto, buono) per facilitarne il confronto. Si osserva che le due mappe risultano nel complesso simili. La classificazione

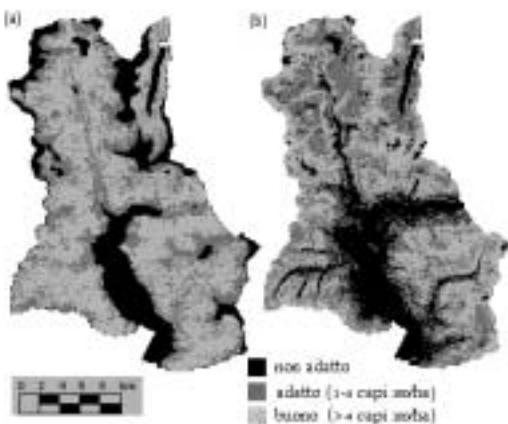


Fig. 1 – Carte di vocazionalità faunistica del comprensorio alpino di Chiavenna per il Camoscio (*Rupicapra rupicapra*) secondo i modelli di valutazione ambientale (a) di Felettig (1976) e (b) di Pedrotti e Tosi (1996).

Tab. 1 - Modello di valutazione ambientale per le zone di estivazione del Camoscio (*Rupicapra rupicapra*) (modificato rispetto a Pedrotti & Tosi, 1996).

ELEMENTI DI VALUTAZIONE:	Punteggio P
<b>1. ALTITUDINE (in metri s.l.m.):</b>	
< 500	1
500-900	3
900-1250	7
1250-1500	10
1500-1750	20
1750-2000	17
>2000	14
<b>2. ESPOSIZIONE:</b>	
NO, N, NE	7
E, O	8
SE, SO	6
S	5
<b>3. PENDENZA (in gradi):</b>	
0°-10°	2
11°-20°	5
21°-45°	7
46°-55°	11
56°-90°	20
<b>4. VEGETAZIONE:</b>	
vegetazione rupestre e roccia nuda	18
macereto	16
prateria discontinua	20
prateria continua	17
mughete	14
ontaneti	16
arbusteti (escluse mughete ed ontaneti)	7
pascolo alberato	14
pascolo in bosco	12
prati e prati-pascoli	4
boschi di conifere con abete rosso e larice	11
faggete	8
pinete a pino nero	4
bosco di carpino e ornio (ornio-ostrieto)	6
bosco di roverella e leccio	2
boschi di castagno	4
paludi, aree antropiche, coltivi	0

HSI = Paltitudine+ Pesposizione+ Ppendenza + Pvegetazione

HSI	Densità di camosci (n°capi/100 ha)
0-25	0
26-30	1
31-35	2
36-40	4
41-45	6
46-50	8
51-55	10
56-60	12
>60	15

ne differente di alcune zone è dovuta principalmente alla diversità dei modelli nell'attribuzione dei punteggi alla copertura vegetazionale. Associando ad ogni classe di vocazionalità la corrispondente densità potenziale di animali, si è stimata la dimensione della popolazione di camosci che la Val Chiavenna può potenzialmente sostenere. La stima della consistenza secondo i due modelli è molto simile e si aggira attorno ai 1950 capi (1927 capi secondo il modello di Felettig e 1983 capi secondo quello di Pedrotti e Tosi), un valore quindi molto maggiore della popolazione attuale (stimata in 598 camosci nel 1997 dal Servizio Faunistico provinciale).

Oltre alla produzione di carte di vocazionalità faunistica, i modelli di valutazione ambientale possono anche essere utilizzati per valutare l'impatto che la costruzione di un manufatto o un intervento sul territorio potrà avere su una determinata specie. Ad esempio, nelle aree alpine si può valutare come la costruzione di un nuovo impianto di risalita modifica la vocazionalità di un'area per una specie. Il disturbo causato dall'impianto può essere quantificato supponendo che agisca in modo decrescente man mano che ci si allontani dall'impianto e che il suo effetto sia trascurabile ad una certa distanza. Ovviamente per poter determinare questa distanza e per capire come il disturbo agisca sulla biologia della fauna selvatica occorre una conoscenza approfondita delle specie, acquisibile solo attraverso studi specifici sul campo.

L'applicazione ad un territorio di modelli di valutazione ambientale esistenti mediante un GIS non è quasi mai un'operazione semplice. Spesso i modelli vanno modificati per adattarli alla specifica situazione geografica studiata e alla disponibilità dei dati. Inoltre può essere necessario variare il modello per testarne la sensibilità ai diversi parametri: nel caso dell'impianto di risalita e delle relative piste di discesa, ad esempio, si può studiare come cambia la vocazionalità dell'area al variare della distanza fino a cui il disturbo è supposto agire e dell'intensità dello stesso. Il programma VVF, caratterizzato da estrema flessibilità e da facilità d'uso, permette proprio di compiere queste operazioni e funge, quindi, da reale strumento di supporto alle decisioni per chi concretamente opera sul territorio.

L'applicazione illustrata evidenzia che i modelli di valutazione ambientale sono utili per rappresentare in una forma semplice e comprensibile i principali fattori che influenzano la presenza e l'abbondanza di una specie in un'area. Essi

vanno quindi visti come ipotesi della relazione tra una specie e l'habitat in cui essa vive, e non come previsioni attendibili della risposta di una specie all'ambiente in cui si trova (Morrison *et al.*, 1992). Il loro valore consiste nel documentare una procedura ripetibile di valutazione di un habitat che può essere utilizzata per stimare l'impatto di nuovi progetti di infrastrutture e per confrontare l'effetto di diverse politiche di gestione o di pianificazione. I modelli di valutazione ambientale non possono quindi in nessun modo sostituire il rilevamento di dati faunistici di base da condursi sul territorio.

### 3. I modelli demografici del Camoscio e del Gallo Forcello

#### 3.1. Il Camoscio

Sono state analizzate serie di dati pluriennali di censimenti e di abbattimenti, suddivisi per sesso e classe d'età, raccolti nel periodo dal 1991 al 1997 in tutta la provincia. I censimenti sono stati effettuati da cacciatori e agenti di vigilanza della provincia di Sondrio ed i dati ci sono stati forniti nell'ambito di una convenzione di ricerca stipulata dal Politecnico di Milano con l'Amministrazione Provinciale di Sondrio. I censimenti sono stati condotti suddividendo il territorio in 20 settori, ma solo per 17 è stato possibile ottenere serie di dati pluriennali complete. I confini dei settori di censimento sono amministrativi e pertanto non sempre individuano popolazioni isolate o comunque in scarso contatto tra loro. Nel 1997 la consistenza del Camoscio in tutto il territorio della provincia (fatta eccezione per le due Aziende Faunistiche di Valbelviso-Barbellino e Val Bondone-Val Malgina) è stata stimata in circa 5900 capi, contro i 3800 del 1994 e i 2800 del 1981 (Scherini, 1984 e 1994). La specie sembra pertanto in crescita, come confermato dai tassi finiti di crescita medi calcolati nel periodo tra il 1991 ed il 1997, tassi che sono risultati superiori a 1 in 15 settori su 17 (Tab. 2).

A questi dati è stato applicato un modello demografico sviluppato per la popolazione di camosci dell'Azienda Faunistica Valbelviso - Barbellino (Capurro, 1991; Capurro *et al.*, 1997). Questa popolazione è tra quelle dell'intero territorio lombardo per cui si dispone di dati demografici di miglior qualità e attendibilità. E' pertanto interessante applicare il modello su altre popolazioni per vedere quanto queste siano conformi al modello calibrato sulla popolazione di Valbelviso. Il modello, in sintesi,

aveva evidenziato che la mortalità era dipendente dal sesso e dalla densità totale con un ritardo di due anni, mentre non erano state trovate correlazioni significative tra variabili demografiche e fattori ambientali quali la copertura nevosa. Per la mortalità dei capretti in particolare, era stata evidenziata dipendenza sia dalla densità dei capretti nati nello stesso anno sia dalla densità totale osservata due anni prima. La fertilità era invece risultata indipendente dalla densità. Dall'analisi dei dati demografici era inoltre emersa una relazione lineare fortemente significativa tra il numero di capretti femmine e il numero di femmine adulte. Il modello demografico era stato quindi utilizzato per effettuare simulazioni della dinamica di popolazione utilizzando differenti politiche di abbattimento (Capurro, 1991).

La relazione tra il numero di capretti e il numero di femmine adulte calcolata sul set di dati completo della provincia di Sondrio è in perfetto accordo con quella osservata in Valbelviso ed è altamente significativa ( $R^2 = 0.98$ ,  $p < 0.0001$ ) (Fig. 2). La fertilità del Camoscio sembra pertanto essere indipendente dalla densità e costante in tutto il territorio provinciale. I tassi di mortalità calcolati in tutti i settori per sesso e gruppi di età sono mediamente diversi da quelli osservati in Valbelviso e variano sen-

sibilmente da un settore all'altro (Tab. 2). Questo si osserva anche per settori di censimento che sono geograficamente adiacenti. In questi casi le ampie differenze osservate possono essere spiegate dal passaggio di capi da un settore a quello vicino, passaggio possibile quando il confine tra settori non corrisponde ad una barriera geografica per la specie, ma potrebbero verosimilmente indicare errori di conteggio o di attribuzione dell'età durante i censimenti.

L'influenza della densità totale sul tasso finito di crescita, chiaramente osservata nei camosci della Valbelviso, si osserva solamente su 2 dei 17 settori e non sembra quindi essere un fattore di controllo demografico per le popolazioni analizzate perlomeno alle densità registrate. È stato invece osservato in 5 settori un effetto significativo della densità dei capretti sul tasso di mortalità dei capretti stessi. Questa dipendenza, oltre a essere evidente anche in Valbelviso, è stata osservata anche per una popolazione di camosci del gruppo del Brenta (Rosà *et al.*, 1997).

Su alcuni settori della Provincia di Sondrio sembra pertanto possibile applicare il modello demografico sviluppato per la Valbelviso per analizzare diverse politiche di abbattimento.

**Tab. 2** - Confronto del tasso finito di crescita e dei tassi finiti di mortalità del Camoscio tra la popolazione di Valbelviso – Barbellino e le altre popolazioni della provincia di Sondrio. In grassetto sono riportati i tassi di crescita maggiori di uno.

Settori	Tasso finito di crescita	Popolazione totale	Tassi di mortalità		Capretti
			Maschi di 1 o più anni	Femmine di 1 o più anni	
Valbelviso – Barbellino	0.990	0.196	0.091	0.052	0.580
SO 1u	0.959	0.213	0.240	0.131	0.324
SO 1v	<b>1.035</b>	0.104	0.158	0.039	0.287
SO 1z	<b>1.171</b>	0.014	0.102	-0.080	0.272
SO 2u	<b>1.478</b>	-0.192	0.066	-0.289	-0.278
SO 2v	<b>1.104</b>	0.032	0.258	0.059	-0.288
SO 2z	0.933	0.194	0.200	0.148	0.350
SO 3p	<b>1.140</b>	0.062	0.064	0.024	0.261
SO 3q	<b>1.102</b>	0.050	0.095	-0.010	0.387
SO 3r	<b>1.238</b>	-0.099	0.152	-0.056	-0.573
SO 3s	<b>1.199</b>	0.008	0.190	0.004	-0.207
SO 3t	<b>1.153</b>	-0.031	0.102	-0.051	0.217
SO 3u	<b>1.492</b>	-0.486	-0.257	-0.853	-0.488
SO 3v	<b>1.269</b>	-0.003	0.029	-0.119	0.315
SO 3z	<b>1.457</b>	-0.265	0.007	-0.264	-0.681
SO 4v	<b>1.166</b>	0.075	0.066	0.071	0.265
SO 4z	<b>1.370</b>	-0.358	-0.104	-0.222	-0.718
SO 5t	<b>1.193</b>	-0.161	0.163	-0.220	-4.646

### 3.2. Il Gallo Forcello

Il Gallo Forcello o Fagiano di monte, è una specie presente su tutto l'arco alpino e soggetta a prelievo venatorio. Questa specie risulta di notevole importanza in quanto rappresenta un valido indicatore ecologico del livello di degrado dell'ambiente alpino: essa è, infatti, particolarmente sensibile alle alterazioni dell'ambiente causate dall'abbandono della montagna e delle relative pratiche colturali (Gallinaro, 1997), al disturbo antropico, alla pressione turistica, alla costruzione di strade, di linee elettriche e di impianti sciistici. Questi ultimi, in particolare, sono causa di perdita e frammentazione degli habitat, nonché di una rilevante mortalità da impatto contro funi metalliche (Miquet, 1990; Bevanger, 1995). È interessante notare come anche attività credute a basso impatto quali lo sci alpino e fuoripista, siano in realtà notevoli fonti di disturbo per la specie (Aa. Vv., 1985; Lorch, 1995; BUWAL, 1996). Per le caratteristiche biologiche della specie si rimanda all'ampia bibliografia esistente in materia (tra cui Glutz Von Blotzheim, 1985).

In Provincia di Sondrio la caccia al Fagiano di monte viene esercitata solo sui maschi e durante l'autunno (ottobre-novembre). La fig. 3 riporta alcuni dati sul numero di cacciatori e di galli forcelli abbattuti nel territorio provinciale per gli anni 1980-1997. Emerge che il numero di capi abbattuti per cacciatore sembra in lieve e significativo aumento (regressione lineare: pendenza=0.0138;  $R^2=0.248$ ;  $p<0.05$ ) passando in media da 1 capo ogni 4 cacciatori negli anni 1979-84 a 1 capo ogni 2,5 cacciatori negli ultimi 5 anni. Questo aumento potrebbe essere dovuto sia alla drastica riduzione del numero di cacciatori che praticano questo tipo di caccia (da oltre 2255 nel 1980 a 444 nel 1997) che ad

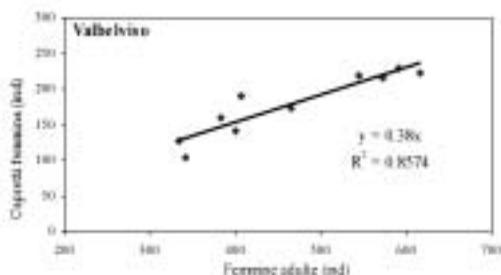


Fig. 2 – Confronto tra la fecondità del Camoscio osservata in Valbelvisio e in diversi distretti della Provincia di Sondrio.

un recupero delle popolazioni di Gallo Forcello presenti nel territorio provinciale.

Nell'analizzare questi dati occorre tenere presente che mentre i dati sul numero di cacciatori sono affidabili, quelli sul numero di capi abbattuti possono essere sottostimati (Baines e Lindén, 1991) soprattutto per mancata denuncia degli abbattimenti.

Il modello demografico utilizzato è stato sviluppato da Gatto *et al.* (1992) e si basa sui dati rilevati in 6 colonie presenti nelle Alpi lombarde negli anni 1983-85 (Scherini *et al.*, 1989). Tali aree sono rappresentative delle diverse situazioni ambientali del territorio alpino e prealpino lombardo e comprendono sia zone in cui la caccia è permessa sia aree chiuse alla caccia o nelle quali la pressione venatoria può ritenersi trascurabile. In particolare due di esse si trovano in provincia di Sondrio (Zandila e Aprica). I dati utilizzati per la costruzione del modello demografico riguardano i censimenti effettuati nelle diverse aree campione due volte nel corso di ogni anno. Durante i censimenti primaverili sono stati contattati i maschi in parata sulle arene di canto al fine di stimare la popolazione maschile. I censimenti estivi hanno invece lo scopo di valutare il numero di femmine e di giovani e, di riflesso, il successo riproduttivo della specie.

Il modello demografico di Gatto *et al.* (1992) descrive la dinamica dei soli maschi di Fagiano di monte. Tale restrizione è giustificata principalmente dal fatto che il prelievo venatorio viene esercitato solo sui maschi. Il modello, di tipo stocastico, tiene conto della variabilità ambientale data, ad esempio, da inverni particolarmente rigidi o estati particolarmente fredde e piovose che influenzano la sopravvivenza e il successo riproduttivo della specie. Senza entrare nel dettaglio del modello (descritto in maniera esaustiva in Montalbetti, 1989, ed in

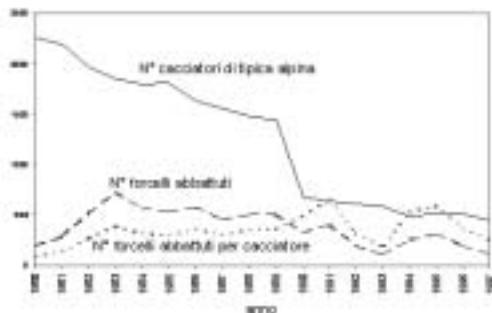


Fig. 3 – Dati sul numero di cacciatori di tipica alpina e sull'abbattimento di Galli Forcelli (*Tetrao tetrix*) in Provincia di Sondrio negli anni 1980-97.

maniera più sintetica in Gatto *et al.*, 1992), occorre specificare che la sopravvivenza invernale è stata stimata considerando solo le colonie in cui la caccia è assente o trascurabile e il successo riproduttivo è risultato dipendente dalla densità. In particolare, all'aumentare della densità di maschi adulti diminuisce il rapporto tra maschi giovani e maschi adulti.

I dati di censimento degli anni 1992-98 relativi all'intera Val Viola (Bormio) sono stati confrontati con il modello per verificarne l'allineamento. Questo confronto è risultato positivo per quanto riguarda il successo riproduttivo. La sopravvivenza della popolazione della Val Viola è risultata invece essere minore di quella stimata dal modello. Questo è spiegabile dal fatto che in parte della Val Viola è annualmente operato un prelievo venatorio: alla mortalità naturale va quindi aggiunta la mortalità dovuta al prelievo.

Il modello demografico stocastico è stato utilizzato per valutare l'effetto di diverse strategie di prelievo venatorio sulle popolazioni di Gallo Forcello presenti in Provincia di Sondrio (habitat potenziale per questa specie pari a 492 km<sup>2</sup>). Data una politica di prelievo, è possibile simulare l'andamento della dimensione della popolazione per un certo numero di anni e stimare il numero medio di capi abbattuti e la variabilità di tali abbattimenti. Inoltre è possibile stimare la consistenza minima che la popolazione raggiunge nel corso del periodo considerato, questa grandezza risultando di notevole importanza in quanto è noto che popolazioni di piccole dimensioni sono soggette ad un maggior rischio di estinzione (Caughley e Gunn, 1996). Molti ricercatori parlano proprio di Minimum Viable Population (MVP) per indicare la dimensione minima di una popolazione in un certo habitat al di sopra della quale il rischio di estinzione è minimo anche nel caso che si verifichino perturbazioni dovute a catastrofi naturali o alla stocasticità demografica, ambientale e genetica (Shaffer, 1981).

Sono state considerate le seguenti tre politiche di prelievo:

1. ogni anno il numero di capi abbattuti è una percentuale costante della popolazione maschile presente alla fine dell'estate; la percentuale da prelevare può essere differente per giovani e adulti;
2. ogni anno viene cacciata una quota costante di Fagiani di monte; tuttavia, nel caso in cui la popolazione maschile sia al di sotto di un valore minimo, solo una percentuale di tale popolazione viene abbattuta (come per la politica 1);
3. il numero di capi da abbattere viene determi-

nato prima della stagione di caccia in modo da garantire che un numero costante di maschi (stock riproduttore) scampi al prelievo e si riproduca nella primavera successiva (politica cosiddetta di constant escapement, Gatto, 1985). Negli anni in cui la popolazione maschile risulti inferiore allo stock riproduttore che si vuole garantire, la caccia non viene permessa.

Per ogni politica sono state generate 100 simulazioni considerando un orizzonte temporale di 50 anni. I risultati delle simulazioni sono stati utilizzati per la ricerca della strategia di caccia ottimale, che è stata effettuata considerando diversi criteri. In particolare, le politiche sono state valutate secondo i seguenti tre obiettivi:

- (A) massimizzazione del numero medio di capi prelevati;
- (B) minimizzazione della variabilità (misurata come rapporto tra deviazione standard e media) del numero di capi abbattuti tra un anno e l'altro;
- (C) minimizzazione del rischio di scendere al di sotto di una consistenza critica di fagiani (MVP).

Ovviamente gli obiettivi considerati possono essere i più svariati e possono tenere conto di diverse sensibilità e convinzioni etiche e politiche (Gatto, 1985). Esigenze diverse e contrastanti possono quindi essere esplicitate in maniera quantitativa e possono entrare direttamente nel processo decisionale. La scelta degli obiettivi dovrebbe proprio esser fatta coinvolgendo le diverse parti interessate (associazioni di cacciatori, amministratori locali, ambientalisti, abitanti) che spesso hanno interessi conflittuali. Nel caso specifico della Provincia di Sondrio, oltre agli obiettivi sopra descritti, si sono anche poste tre condizioni "minime" che si vuole che ciascuna politica soddisfi:

- (a) la cattura media deve essere maggiore di 200 capi per anno (che significa circa un capo ogni 2 cacciatori);
- (b) la variabilità del cacciato tra un anno e l'altro non deve essere troppo elevata ( $<1$ );
- (c) la popolazione maschile di Gallo Forcello non deve mai scendere al di sotto dei 200 capi. Anche tali condizioni, come gli obiettivi, possono essere discusse e modificate in accordo con le varie parti interessate.

I grafici di fig. 4 rappresentano i risultati delle simulazioni in termini di raggiungimento degli obiettivi. Ogni punto rappresenta una possibile politica di prelievo. Ad esempio, tutti i punti identificati dal simbolo "o" sono risultati di politiche a stock riproduttore costante (tipo 3): ciascuna di esse è individuata dalla consistenza

dello stock riproduttore che si vuole far sopravvivere al prelievo. Sull'ascissa dei due grafici si possono leggere i valori del numero medio di abbattimenti, mentre le ordinate del grafico (a) riportano le consistenze minime della popolazione e le ordinate del grafico (b) riportano la variabilità del cacciato che si ottiene adottando una certa politica. Ad esempio, il punto P rappresenta nei due grafici la stessa politica a stock riproduttore costante individuata da un certo valore dello stock riproduttore. Adottando tale politica il modello prevede un cacciato annuale medio di 744 capi, una consistenza minima della popolazione maschile di 326 capi (grafico a) ed una variabilità degli abbattimenti di 0.898 (grafico b).

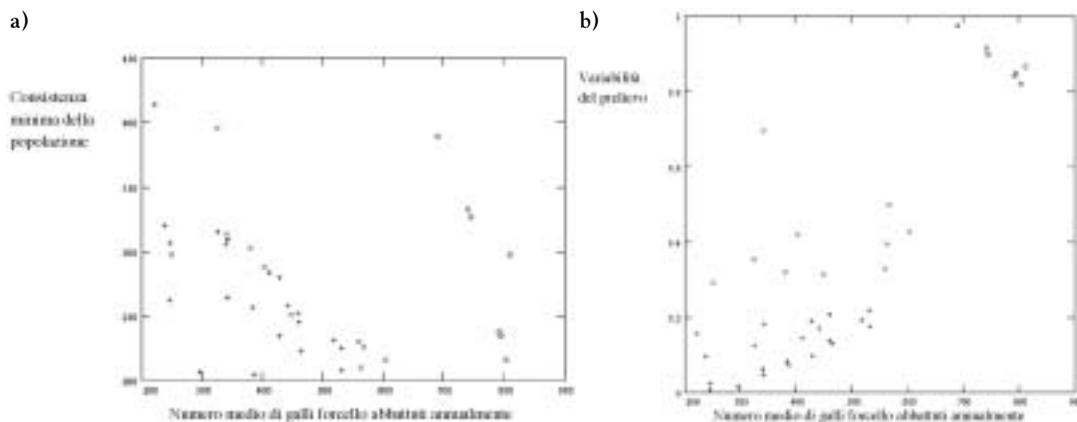
In figura sono rappresentate solo le politiche cosiddette paretiane, ovvero che soddisfano alle condizioni (a), (b) e (c) e che non sono dominate (non esiste un'altra politica migliore per almeno uno dei tre obiettivi). Si osserva dalla figura 4a che le politiche a stock riproduttore costante garantiscono un maggior numero medio di abbattimenti e minimizzano il rischio di estinzione della popolazione. Questo viene però pagato (vedi figura 4b) da una maggiore variabilità del numero di capi da cacciare, soprattutto dovuta al fatto che in alcuni anni la caccia viene impedita, il che non è sempre socialmente accettabile. La scelta di quale strategia venatoria adottare tra quelle rappresentate è una scelta politica nel senso che bisogna decidere quale importanza dare ai diversi obiettivi. Naturalmente le politiche di regolamentazione

dell'attività venatoria che si possono proporre dipendono oltre che dagli obiettivi che ci si pone, anche dalle condizioni in cui ci si trova concretamente ad operare, e cioè dalle regole vigenti, dagli strumenti effettivamente a disposizione per la regolamentazione del prelievo e, non da ultimo, dalle forze disponibili per la raccolta dei dati sulla popolazione che viene cacciata.

#### 4. Conclusioni

In conclusione sembra che la gestione faunistica possa efficacemente avvalersi di metodi quantitativi trasparenti e ripercorribili. Questi metodi permettono di tenere esplicitamente conto dei diversi obiettivi che un decisore deve considerare, siano essi specificamente la gestione venatoria e la conservazione della fauna, la regolamentazione della presenza umana sul territorio o, più in generale, la pianificazione ambientale. I metodi quantitativi producono diversi scenari a seconda degli obiettivi considerati e costituiscono quindi un valido strumento di supporto alle decisioni. Inoltre, un'efficace gestione della fauna dovrà basarsi in misura sempre maggiore sull'analisi del territorio e sulla descrizione esplicita della distribuzione spaziale delle caratteristiche biotiche e abiotiche del territorio.

I modelli non possono sostituire la raccolta di dati e la ricerca sul campo. Infatti, il lavoro di campo risulta necessario ed insostituibile per la conoscenza approfondita di una specie e i dati raccolti costituiscono la base per la costruzione e la validazione di ogni modello matematico.



**Fig. 4** – Le politiche paretiane per il prelievo di Gallo Forcello (*Tetrao tetrix*) nella Provincia di Sondrio. Con il simbolo “x” sono rappresentate le politiche a percentuale di prelievo costante (tipo 1 nel testo); con “+” quelle a quota fissa (tipo 2); con “o” quelle a stock riproduttore costante (tipo 3). Ciascuna politica è rappresentata in due piani aventi rispettivamente come assi i seguenti due obiettivi: (a) prelievo annuale medio – popolazione minima, (b) prelievo annuale medio – variabilità del prelievo.

In particolare, per disporre di modelli demografici realistici che possano dare indicazioni gestionali occorre che la raccolta dei dati sia accurata e regolare. Tali dati devono essere raccolti mediante censimento sul campo secondo metodiche standardizzate per garantire la confrontabilità dei dati e per disporre di serie temporali sufficientemente lunghe. E' da sottolineare come anche la disponibilità di dati esatti sugli abbattimenti risulti essenziale per gli studi della dinamica delle popolazioni.

### 5. Ringraziamenti

Si ringrazia il Servizio Agricoltura, Caccia e Pesca della Provincia di Sondrio per aver fornito i dati faunistici e cartografici utilizzati in questo studio, unitamente al Comprensorio Alpino di Caccia dell'Alta Valle. Gianmarco Paris è stato finanziato dalla Fondazione Lombardia per l'Ambiente con una Borsa di Formazione 1996-1997. La ricerca è stata supportata anche dai fondi del Politecnico di Milano per il progetto "Indirizzi per la pianificazione e la progettazione nelle situazioni di rischio ambientale". Gli autori ringraziano il Dr. Valerio Quadrio dell'Amministrazione Provinciale di Sondrio per l'aiuto fornito nella fase di raccolta e organizzazione dei dati faunistici del Camoscio.

### Bibliografia

- AGEE, J. K., STITT, S. C. F., NYQUIST, M. & ROOT, R. (1989) - A Geographic Analysis of Historical Grizzly Bear Sightings in the North Cascades. Photogrammetric Engineering and Remote Sensing, 11(55), 1637-1642.
- AA. VV. (1985) - Journée d'étude "Tretas-Lyre et ski". In: Champagny-en-Vanoise, 5-6 November, Ministère de l'Environnement, Office National de la Chasse, Parc National de la Vanoise.
- BAINES, D. & LINDÉN, H. (1991) - The impact of hunting on grouse population dynamics. *Ornis Scandinavica*, 22,245-246.
- BEGON, M., HARPER, J. L. & TOWNSEND, C. R. (1986) - Ecology. Individuals, populations and communities. Blackwell Scientific Publications.
- BEVANGER, K. (1995) - Estimates and population consequences of tetraonid mortality caused by collisions with high tension power lines in Norway. *Journal of Applied Ecology*, 32,745-753.
- BUWAL (1996) - Tourismus, Freizeitsport und Wildtiere in Schweizer Alpenraum. Bundesamt für Umwelt, Wald und Landschaft (BUWAL), Schriftenreihe Umwelt, 262.
- CAPURRO, A. F. (1991) - Dinámica poblacional y optimización del manejo de una población de *Rupicapra rupicapra* en el Norte de Italia. Ph.D. thesis, Biol. Sci. Dept, Univ. De Buenos Aires.
- CAPURRO, A. F., GATTO, M. & TOSI, G. (1997) - Delayed density dependence in a chamois population of the Italian Alps. *Ecography* 20: 37-47.
- CAUGHLEY, G. & GUNN, A. (1996) - Conservation biology in theory and practice. Blackwell Science.
- DOBSON, A. P. (1995) Conservation and Biodiversity. Scientific American Library, New York.
- FELETTIG, S. (1976) La riserva di caccia. Circolo Cacciatori Friulani, Udine.
- GALLINARO, N. (1997) Valutazione dell'idoneità ambientale a fini faunistici. Caso di studio: la popolazione di Gallo Forcello (*Tetrao tetrix*) nella zona di ripopolamento e cattura "Buco di Grigna". Provincia di Lecco, Settore ambiente ed ecologia - Servizio faunistico.
- GATTO, M. (1985) Introduzione all'ecologia delle popolazioni. Clup, Milano.
- GATTO, M., MONTALBETTI, F., TOSI, G. & SCHERINI G. (1992) - Modelling black grouse populations in northern Italy.
- GLUTZ VON BLOTZHEIM, U. N. (1985) - Tetraonidi. Rapporto della Stazione Ornitologica Svizzera, Sempach.
- L. A. S. - LOGICIELS ET APPLICATIONS SCIENTIFIQUES (1996) - Grassland User's Guide.
- LORCH, J. (1995) Trendsportarten in den Alpen. CIPRA, Kleine Schriften, 12.
- MIQUET, A. (1990) Mortality in Black Grouse *Tetrao tetrix* due to elevated cables. *Biological Conservation*, 54,349-355.
- MONTALBETTI, F. (1989) Identificazione di un modello demografico del Gallo Forcello (*Tetrao tetrix*) in Lombardia e ricerca di politiche ottime di prelievo venatorio. Tesi di Laurea, Politecnico di Milano, Milano.
- MORRISON, M. L., MARCOT, B. G. & MANNAN, R. W. (1992) - Wildlife-Habitat Relationships. Concepts and Applications. The University of Wisconsin Press, Madison.
- ORMSBY, J. P. & LUNETTA, R. S. (1987) - Whitetail deer Food Availability Maps from thematic Mapper Data. Photogrammetric Engineering and Remote Sensing, 8:1081-1085.
- RANCI ORTIGOSA, G., DE LEO, G. A. & GATTO, M. (1997) - Un prototipo di Sistema Informativo Territoriale per la valutazione della vocazionalità faunistica di aree alpine. In: Atti dell'VIII Congresso Nazionale della Società Italiana di Ecologia, Parma, 10-12 settembre.
- ROSÀ, R., RIZZOLI, A., PUGLIESE, A., GENCHI, C. E CITTERIO, C. (1997) - Modelli per lo studio delle infestazioni endoparassitarie del Camoscio (*Rupicapra rupicapra* L.) del Brenta (Trentino, Italia). Report N. 12, Centro di Ecologia Alpina, Sardinia (TN).
- ROSEBERRY, J. L., RICHARDS, B. J. E HOLLENHORST, T. P. (1994) - Assessing the Potential Impact of Conservation Reserve Program Lands on Bobwhite Habitat Using remote Sensing, GIS and Habitat Modeling. *Photogrammetric Engineering and Remote Sensing*, 9(60), 1139-1143.
- SCHERINI, G., TOSI, G., GUIDALI, F. E FERRARIO, G. (1989) - Indagine faunistica sulla consistenza, dina-

- mica di popolazione e gestione venatoria del Gallo Forcello (*Tetrao tetrix*) sulle Alpi lombarde. Quaderni della Regione Lombardia, Settore Agricoltura.
- SCHERINI, G.C. (1984) - Piano Agro-Faunistico. Amministrazione Provinciale di Sondrio.
- SCHERINI, G. C. (1994) - Piano Faunistico Venatorio. Amministrazione Provinciale di Sondrio.
- SHAFFER, M. L. (1981) Minimum population sizes for species conservation. *BioScience*, 31(2), 131-134.
- Spagnesi, M. & Toso, S. (1990) - Carta delle vocazioni faunistiche. Regione Piemonte, Assessorato Turismo, Sport, Tempo Libero, Caccia e Pesca and Istituto Nazionale di Biologia della Selvaggina.
- Tosi, G. & Pedrotti, L. (1996) - Progetto Camoscio Monte Baldo. Amministrazione Provinciale Verona. Servizio Caccia, Pesca e Protezione della fauna.

# UTILIZZO DEL TRASPONDER COME MARCATURA PERMANENTE PER LA FAUNA SELVATICA

Mari F.\*, Gentile L., Locati M.

Centro Studi Ecologici Appenninici, Parco Nazionale D'Abruzzo - Viale Santa Lucia - 67032 Pescasseroli (Aq)

\* Indirizzo per corrispondenza: Via Lanino, 6 - 20144 Milano.

**Riassunto** - Il trasponder è un sistema di identificazione miniaturizzato (2 x 10 mm), in grado di comunicare mediante onde a bassa frequenza con un lettore che identifica il codice alfanumerico identificativo. Due modelli di trasponder (Destron Idi e Datamars/Bayer), impiantati sottocute in regione scapolare durante narcosi, sono stato testati dal settembre 1990 all'agosto 1997 sulla fauna del Parco Nazionale d'Abruzzo, per verificare il loro utilizzo come metodo di identificazione elettronico di base sul lungo periodo. Il test è stato condotto sia su animali catturati in natura sia mantenuti in cattività, appartenenti ad 8 specie (n=105: 58 Camosci d'Abruzzo *Rupicapra pyrenaica ornata*, 16 Orsi di cui 13 marsicani *Ursus arctos marsicanus* e 3 bruni *Ursus arctos*, 12 Lupi *Canis lupus*, 7 Cervi *Cervus elaphus*, 6 Caprioli *Capreolus capreolus*, 5 Linci *Lynx lynx* ed 1 Gatto selvatico *Felis silvestris*). Abbiamo verificato il funzionamento del sistema prima e dopo l'impianto (n=212), e durante le ricatture (n=228) di 54 soggetti. In nessun caso si è riscontrato segni di infiammazione ai tessuti o migrazione dei due tipi di trasponder, anche durante i successivi controlli e le necropsie degli animali ritrovati morti, ed è sempre stato possibile rilevare il codice. E' stato sempre possibile leggere il codice del trasponder per un tempo massimo di almeno 6.2 anni. Il codice identificativo può essere però decodificato dal lettore solo ad una distanza di pochi centimetri. Quindi, per i normali programmi di gestione faunistica deve essere associato ad un altro sistema di marcatura visibile a distanza. Dalla nostra esperienza riteniamo che il trasponder possa costituire un valido supporto identificativo sul lungo periodo in caso di perdita o deterioramento della normale marcatura di un soggetto, o possa venir usato per identificare le specie difficili da marcare.

**Abstract - Trasponder as permanent identification system for wildlife.** Trasponder is an miniaturized (2 x10 mm size) identification system, that can communicate via low frequency radio waves with a decoder able to read the tag preprogrammed inalterable code. From September 1990 to August 1997, two trasponder systems (Destron Idi and Datamars/Bayer) subcutaneously implanted under narcosis in the scapular area, were tested in order to provide a reliable basal identification tool for 8 wildlife species in Abruzzo National Park. The test was performed in free-ranging and captive animals (n=105 : 58 Abruzzo Chamois *Rupicapra pyrenaica ornata* , 13 marsican Brown bears *Ursus arctos marsicanus* and 3 Brown bears *Ursus arctos*, 12 Wolves *Canis lupus*, 7 Red deer *Cervus elaphus*, 6 Roe deer *Capreolus capreolus*, 5 Lynx *Lynx lynx* and one Wild cat *Felis silvestris*). We tested the system before and after the implantation (n=212), and during recapture (n=228) on 54 different individuals. None of the tested animals showed signs of inflammation or trasponder migration. The preprogrammed tag code was always readable and we tested it for a maximum of 6.2 years. Portable decoder can read the tag code only at short distance with the animal in-hand, so for usual wildlife management practice it would be necessary to use also another visible mark system. We think that trasponder provide a reliable basal identification method for long-term studies or for hard-to-mark wildlife.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 27 - 30

## 1. Introduzione

Nell'ambito dei programmi di ricerca e di gestione faunistico-sanitaria della fauna selvatica, risulta indispensabile essere in grado di distinguere con certezza singoli individui all'interno di una data specie.

A questo scopo sono stati sviluppati diversi sistemi come tatuaggi, mutilazioni, decolorazione di pelo o penne, applicazione di marcature colorate..., alcuni dei quali consentono anche il riconoscimento a distanza dei soggetti (Lovari, 1980).

In molti casi, limiti a queste tecniche si sono dimostrate la loro durata o la possibilità di un'errata identificazione.

Dal 1990, nel Parco Nazionale d'Abruzzo ha

avuto inizio la sperimentazione su mammiferi selvatici, sia in natura che in cattività, di un nuovo sistema identificativo elettronico basato sulla radio frequenza (Trasponder) che, seppur impiantato sottocute e quindi non visibile a distanza, sembra in grado di assicurare la leggibilità e l'inalterabilità di un codice rendendo identificabile il soggetto per tutta la sua vita.

Scopo del nostro lavoro era quello di verificare l'affidabilità, tollerabilità e la durata di questo sistema, in modo da poterlo utilizzare come metodo identificativo di base.

## 2. Materiali e metodi

Il sistema di identificazione (Trasponder) è composto da una capsula di materiale biocom-

patibile di ridotte dimensioni (2x11 mm), contenente un antenna, un circuito elettronico ed un micro-chip con codice alfa-numerico identificativo. Il tutto è inserito in un applicatore a siringa per l'iniezione sottocutanea, confezionato in busta sterile.

La durata dei trasponder viene stimata dalle ditte produttrici intorno a 20 anni. A riposo il trasponder non ha bisogno di energia. Per la lettura viene usato un lettore portatile dotato di un'antenna che consente, grazie all'emissione di una particolare frequenza, di attivare il circuito elettronico del trasponder che trasmette il codice alfa-numerico del microchip su di una frequenza molto bassa, non dannosa né per l'animale né per l'ambiente circostante. La stessa antenna è anche in grado di leggere il codice identificativo sino ad una distanza massima, che per alcuni modelli arriva fino a 70 cm.

Il processo di eccitazione, emissione e lettura codice avviene in pochi secondi.

Dal settembre 1990 all'agosto 1997 nel Parco Nazionale d'Abruzzo il trasponder è stato impiantato sia in animali catturati e rilasciati in natura sia in quelli mantenuti in recinto (n = 105), appartenenti ad 8 specie diverse: 58 camosci d'Abruzzo *Rupicapra pyrenaica ornata*, 16 orsi di cui 13 marsicani *Ursus arctos marsicanus* e 3 bruni *Ursus arctos*, 12 lupi *Canis lupus*, 7 Cervi *Cervus elaphus*, 6 caprioli *Capreolus capreolus*, 5 linci *Linx linx* ed 1 gatto selvatico *Felis silvestris*.

Nell'ambito degli specifici programmi di ricerca attivati nel Parco, solo gli esemplari di Camoscio (n = 58) e quelli di Orso marsicano catturati e rilasciati in natura (n =10) sono stati dotati anche di marche auricolari per il loro riconoscimento a distanza.

I trasponders impiantati inizialmente (n=37) erano del tipo Destron-Idi, mentre successivamente (n=68) si è usato il tipo T-IS6100 prodotto dalla Datamars SA (Cadempino-Lugano, Svizzera) e commercializzato in Italia dalla Bayer con il nome di "Animal Coder". In Tab. 1 viene riportata l'applicazione dei due tipi all'interno di ogni specie.

I due modelli di trasponders sono analoghi come dimensioni, componenti e prestazioni; la scelta del tipo Datamars/Bayer è dovuta alla disponibilità per questo sistema di un lettore portatile (Mod. R-PO6300) molto compatto (cm 20x7x20,5; peso 3.900 gr incluse batterie) ed in grado, rispetto al tipo Destron-Idi, di leggere e memorizzare tra i 1.820 ed i 10.920 codici di trasponders prodotti anche da altre case. Inoltre un software applicativo rende possibile trasmettere i codici immagazzinati ad un computer richiamando poi i dati associati ad ogni soggetto. L'iniezione sottocutanea dei trasponders nei soggetti è avvenuta durante narcosi previa disinfezione della parte interessata. Dopo l'applicazione si è provveduto ad effettuare una pressione sul punto d'inoculo a scopo emostatico per scongiurare l'eventuale uscita del trasponder dal foro ancora aperto (AAVV, 1988) e ad una verifica funzionale del trasponder. Come zona d'impianto, contrariamente a quanto indicato per le specie domestiche (Cannas, 1991; AAVV, 1988), è stata scelta la regione scapolare sinistra, per 2 motivi: 1) praticità di impianto e successiva lettura, in quanto l'animale durante l'anestesia è tenuto in decubito laterale destro; 2) maggiore probabilità di identificazione di animali ritrovati morti in natura, in quanto i predatori presenti nell'area raramente tendono a consumare la carcassa

Tab. 1 - Uso dei due differenti tipi di trasponder all'interno di ogni specie.

Specie	N° Trasponders		Totale
	Destron Idi	DataMars/Bayer	
Camoscio	21	37	58
Orso	10	6	16
Lupo	0	12	12
Lince	2	3	5
Cervo	1	6	7
Capriolo	2	4	6
Gatto selvatico	1	0	1
<b>Totale</b>	<b>37</b>	<b>68</b>	<b>105</b>

partendo da questa zona. In tutte le successive immobilizzazioni, e nei soggetti rinvenuti morti, oltre al controllo del mantenimento in sede d'impianto dei trasponder e della leggibilità del codice, si procedeva alla verifica della comparsa di eventuali reazioni locali nel punto di inoculo. Nel calcolo della durata, i mesi sono stati considerati di 30 giorni.

### 3. Risultati e discussione

Il camoscio d'Abruzzo rappresenta la specie in cui è stata applicata in misura maggiore la sperimentazione sia perché nel Parco vengono allevati in appositi recinti, sia perché dal 1990, oltre alle catture in natura a scopo di ricerca, è iniziato un programma di re-introduzione nei Parchi Nazionali di Majella e Gran Sasso (Locati *et al.* 1991; Tassi *et al.* 1992).

Dei 58 Camosci catturati (22 M; 36 F), in 22 soggetti, durante le successive immobilizzazioni, si è avuta la possibilità di verificare il sistema 87 volte con una media per soggetto di 3.95 letture (range 1-28; mediana 2; D.S. 6.0), ad un tempo medio dal momento dell'impianto di 20.27 mesi (range: 0.1 - 74.5; mediana: 10; D.S.: 19.23). Il sistema ha permesso di identificare correttamente i resti di 10 soggetti rinvenuti morti per varie cause.

Per quanto riguarda i 16 Orsi bruni (10 maschi; 6 femmine), su 11 individui abbiamo effettuato 54 verifiche con una media per soggetto di 4.9 volte (range 1-13; mediana 4; D.S. 3.85), ad una distanza media di 30.41 mesi dall'applicazione (range: 2.8 - 73.7; mediana: 28.83; D.S.: 19.13). Inoltre, nei 3 animali deceduti, di cui uno per braccionaggio, il trasponder ha permesso l'esatta identificazione dei resti.

Nei lupi sono stati impiegati i trasponder su 12 soggetti (8 M ; 4 F), di cui 11 in cattività ed 1 catturato in natura. Durante successive immobilizzazioni chimiche abbiamo effettuato 34 verifiche su 8 lupi in cattività. La media per soggetto è stata di 4.25 volte (range: 1-8; mediana: 4.5; D.S.: 2.49), ad una distanza media di 29.17 mesi (range: 1.3 - 62.96; mediana: 29.35; D.S.: 17.35). L'uso del trasponder ha consentito di identificare con certezza i 6 soggetti trovati morti.

Nei 5 esemplari di lince (3M ; 2F) mantenuti in cattività, il sistema è stato testato 26 volte a distanza media di 38,3 mesi dall'impianto (range: 0.2-63.06; mediana: 47.3; D.S.: 19.08), con una media per soggetto di 5.2 volte (range: 1-12; mediana: 4; D.S.: 4.08), permettendo l'identificazione dei 2 animali deceduti.

Dei 7 esemplari di cervo (4 M ; 3 F), in 5 sono

state effettuate 15 letture dopo l'impianto con una media per soggetto di 3 (range: 1 - 9; D.S.: 3.46; mediana: 1) ad un tempo medio di 22.35 mesi (range: 0.4 - 41.06; mediana: 22.86; D.S.: 14.43) e sono stati identificati i due soggetti trovati morti.

Nei 6 caprioli (4M ; 2F) il sistema è stato verificato 12 volte su 3 soggetti con una media di 4 volte per soggetto (range: 1 - 7; D.S.: 3) ad una distanza media 19.31 mesi (range: 0.3 - 43.76; mediana: 16.58; D.S.: 13.21).

Per il Gatto selvatico non abbiamo dati di letture successive all'impianto in quanto si tratta di un animale caduto in una trappola e liberato subito dopo essere stato visitato e munito di trasponder.

La procedura d'impianto è risultata estremamente semplice e veloce ed il lettore DataMars/Bayer si è dimostrato affidabile in diverse situazioni incontrate su di campo.

A differenza di alcuni casi riportati in letteratura (Fargestone & Johns, 1987; Cannas, 1991; AAVV, 1988), sia durante i controlli con il lettore prima e subito dopo l'impianto (n= 212), sia nei successivi eseguiti su animali ricatturati (n=228, Tab.2), in entrambi i modelli di trasponder il codice è sempre risultato perfettamente leggibile e non abbiamo mai rilevato alcuna migrazione dal punto d'inoculo. La lettura era però possibile solo quando la distanza tra antenna e trasponder era nell'ordine di pochi centimetri, rendendo quindi utilizzabile il sistema solo su animali catturati o in quelli ritrovati morti. In nessun soggetto abbiamo osservato l'insorgenza di infezioni o reazioni locali.

In merito quindi ad affidabilità e tollerabilità il sistema ha dato sino ad ora esito positivo. Riguardo alla durata, un bilancio è forse prematuro visto che l'intervallo massimo di tempo dall'impianto che abbiamo potuto verificare è di 6 anni e 2 mesi. Essendo però un "sistema passivo", è ipotizzabile possa realmente funzionare per i 20 anni indicati dal produttore, cosa che consentirebbe di coprire l'intera vita dei soggetti.

Dalla nostra esperienza riteniamo che associando il trasponder ad un altro sistema di marcatura rilevabile a distanza, si possa ottenere un sistema sicuro per il riconoscimento individuale su lungo periodo utile anche per la gestione della fauna selvatica in natura. In questo modo è possibile identificare a distanza l'animale, ma nel caso di perdita o deterioramento della marcatura, grazie al trasponder sarà possibile identificare con sicurezza l'animale ricatturato e dotarlo di nuova marca, evitando così di per-

**Tab. 2** - Verifiche del funzionamento del trasponder (n=228).su animali ricatturati.

Specie	Numero soggetti	Numero verifiche	Numero letture da impianto	Tempo di lettura da impianto in anni
Camoscio	22	87	= 3.9, range 1-28	= 1.7, valore max = 6.2
Orso	11	54	= 4.9, range 1-13	= 2.5, valore max = 6.1
Lupo	8	34	= 4.2, range 1-8	= 2.4, valore max = 5.2
Lince	5	26	= 5.2, range 1-12	= 3.2, valore max = 5.2
Cervo	5	15	= 3, range 1- 9	= 1.8, valore max = 3.4
Capriolo	3	12	= 4, range 1- 7	= 1.6, valore max = 3.6
Gatto selvatico	0	0		

dere dati preziosi. Può essere inoltre un valido sistema di identificazione in tutte quelle specie che sino ad ora sono risultate difficili da marcare con i sistemi attualmente in uso.

#### 4. Ringraziamenti

Si ringrazia la Direzione ed il Centro Studi Ecologici Appenninici del Parco Nazionale d'Abruzzo per aver accordato i permessi ed i supporti economici e logistici per svolgere questa ricerca. Siamo infine grati alle guardie del Servizio di Sorveglianza ed ai collaboratori, per il lavoro di campo.

#### Bibliografia

AAVV (1988) - *Rapporto interno della Ditta DataMars, non pubblicato.* 14 pp

CANNAS E.A. (1991) - *Un sistema d'identificazione elettronico nell'anagrafe canina della Sardegna.* Rapporto dell' Ist. Zoopr. della Sardegna.

FARGESTONE K.A. & JOHNS B.E. (1987) - *Transponders as permanent identification markers for domestic ferrets, black-footed ferrets, and other wildlife.* *J. Wildl. Manage.* 51(2) :294-297.

LOCATI M., GENTILE L. & MARI F. (1991) - *La cattura di Camosci appenninici: considerazioni gestionali e recenti esperienze.* Spagnesi M. and S. Toso (Eds.), *Atti del II Convegno Nazionale dei Biologi della Selvaggina. Suppl.Ric.Biol.Selvaggina*, XIX: 195-202.

LOVARI S. (1980) - *Etologia di campagna.* P. Boringhieri Ed., Torino. 266pp.

TASSI F., LOCATI M., SULLI C., GENTILE L. & MARI F. (1992) - *The reintroduction of the Abruzzo chamois - Preliminary considerations.* Trans. 21th I.U.G.B. Congress, Halifax Vol. II: 361-366.

# SHOCK TRAUMATICO IN AQUILA REALE

Macrì B.\*, Di Bella C.\*\* , Caracappa S.\*\* , Marino F.\*\*\*, Macrì F.\* , De Franco A.\*

\* Istituto di Patologia Generale e Anatomia Patologica Veterinaria, Via S. Cecilia, 30 – 98123 Messina

\*\* Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia "A. Mirri", Via R. Dicillo, 4 – 90129 Palermo

\*\*\* Facoltà Medicina Veterinaria - Messina

**Riassunto** - Gli Autori, hanno ritenuto interessante divulgare e discutere un reperto di shock traumatico in un esemplare di Aquila reale (*Aquila chrysaetos*), femmina, adulta, rinvenuto ferito nel territorio del Comune di Alcara Li Fusi (ME) e successivamente deceduto. Vengono riportati gli aspetti anatomo-istopatologici, i risultati degli esami microbiologici e tossicologici effettuati nel contesto di una perizia medico-legale, dopo debita autorizzazione da parte dell'Autorità Giudiziaria competente, con il precipuo scopo di apportare un ulteriore e originale contributo alla conoscenza delle problematiche inerenti la patologia delle specie animali selvatiche. In conclusione, gli Autori discutono i quadri, i risultati delle indagini collaterali e gli aspetti pratico-professionali, soffermandosi sulle probabili cause o concause che possono essere evocate in analoghi casi.

**Abstract - Traumatic shock in a Golden Eagle.** The authors examine and describe a case of traumatic shock in an adult, female golden eagle *Aquila chrysaetos* specimen found wounded in the territory of Alcara Li Fusi (Messina) and which subsequently died. After permission from the Legal Authority and in the context of a medico-legal examination, results of the anatomo-histopathological pictures and the microbiological and toxicological analysis are reported. The present description aims at providing further contribution to the knowledge of wild animals pathology. The authors talk about the results of anatomo-histopathological and laboratory analysis and about its practising aspects. Finally they make some considerations about the causes and the predisposing factors in such cases of death.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 31 - 35

## 1. Introduzione

La patologia dei volatili da cortile o da gabbia risulta tutt'oggi maggiormente studiata rispetto a quella dei volatili selvatici. Questi ultimi, per ovvii motivi, destano maggiore interesse sia in quanto spesso oggetto di salvaguardia come specie in via d'estinzione, importantissime nell'equilibrio biologico naturale, sia in considerazione del fatto che tali animali potrebbero essere considerati come bio-indicatori dell'ambiente in cui vivono.

Tra i volatili selvatici, quelli che destano maggiore interesse e nello stesso tempo preoccupazione sono i rapaci, che da qualche tempo sono oggetto di particolare attenzione sia da parte dei naturalisti sia dei patologi. Sono note, infatti, diverse segnalazioni riguardanti forme morbose sostenute da vari agenti, nonché problemi sanitari legati a forme di tossicosi ambientale, mentre risultano del tutto eccezionali i decessi imputabili a cause traumatiche, segnatamente da arma da fuoco.

In quest'ottica, abbiamo ritenuto interessante riferire l'esito di una perizia medico-legale, disposta dalla Magistratura del Tribunale Circondariale di Patti (ME), effettuata su un esemplare adulto di Aquila reale (*Aquila chrysaetos*), femmina, rinvenuto in un'area monta-

na del Comune di Alcara Li Fusi (ME). Vengono, altresì, riportate alcune considerazioni inerenti gli aspetti pratico professionali che possono risultare utili in circostanze similari.

## 2. Esame necroscopico

Il soggetto è stato fatto pervenire presso il nostro Istituto in stato di congelamento; sottoposto a scongelamento lento a temperatura di refrigerazione, veniva immediatamente sottoposto ad esame necroscopico.

Premettiamo innanzitutto che l'esame radiografico effettuato prima sul corpo dell'aquila, utilizzando varie proiezioni, aveva consentito la visualizzazione di diversi corpi sferici radio-opachi, di cui 4 situati nella regione dell'ala sinistra e solamente 3 nel corpo (Fig. 1). Da una attenta lettura delle lastre, in proiezione dorso-ventrale e latero-laterale si evidenziava che i suddetti non avevano interessato né organi vitali né segmenti ossei, bensì erano trattenuti nei tessuti molli (Fig. 2).

### 2.1 Esame esterno

Buono lo sviluppo scheletrico e muscolare; normale lo stato di nutrizione. All'esame delle mucose delle cavità naturali, facilmente esplorabili, si osservava che nelle cavità orbitali

i globi oculari apparivano leggermente infossati, mentre una modica quantità di materiale di aspetto mucoso, verosimilmente di natura alimentare, era presente in cavità buccale. Inoltre, a carico della cloaca, si repertava una modica quantità di materiale fecaloide di colorito giallo-verdastro, che imbrattava le piume circostanti.

## 2.2. Esame interno

Allo scuoiamento, nella regione toracica di sinistra, venivano repertati, irregolarmente distribuiti nel sottocute, n. 3 pallini da caccia n. 7, del diametro di circa un millimetro; attorno ai suddetti non si osservava alcuna reazione flogistica. Un quarto pallino, sempre delle medesime dimensioni, veniva visualizzato a carico del muscolo sovracoracoideo di sinistra, in corrispondenza della testa dell'omero; anche in quest'ultimo distretto non era possibile cogliere alcuna reazione.

All'apertura della cavità celomatica, si rilevava una certa quantità di grasso di deposito, uniformemente distribuito. Non era possibile cogliere alcuna soluzione di continuo né alcun versa-

mento patologico né sulla parete né all'interno della cavità celomatica.

Al ribaltamento dello sterno, la topografia dei visceri toraco-addominali appariva normale, mentre la sierosa dell'apparato digerente, per tutto il suo decorso, presentava un colore tendenzialmente rossastro.

L'ingluvie aveva la grandezza di un melograno, con pareti sovradistese e di consistenza sodocompatta. All'apertura, il lume era completamente occupato da materiale alimentare, di colorito grigio-giallognolo e di consistenza poltacea, nel quale si distinguevano, verosimilmente, alcuni frammenti di carne.

Lo stomaco muscolare, quasi vuoto, con mucosa apparentemente normale, conteneva soltanto alcune fibre di vegetali, frammiste a materiale mucoso di colorito tendente al verdastro.

L'intestino tenue, vuoto di contenuto, presentava un materiale tenacemente adeso alla mucosa, di colorito verdastro, a tratti anche lievemente striato di sangue, unitamente a rari frustoli di materiale vegetale. Nel lume dell'ultimo tratto si repertava un contenuto del medesimo aspetto



**Fig. 1** – Aquila reale: RX dorso-ventrale. In evidenza diversi punti radio-opachi, identificabili come pallini da caccia.



**Fig. 2** – Aquila reale: RX latero-laterale. Conferma della posizione dei pallini da caccia trattenuti nei tessuti molli sottocutanei.

e di consistenza lievemente aumentata, ma mai compatta. L'esame dell'apparato respiratorio permetteva di mettere in evidenza che i polmoni, in situ, apparivano ben adesi alle pareti costali ed ai sacchi aerei. Dopo l'allontanamento dei polmoni, risaltavano, oltre le fisiologiche impronte costali sulla superficie dorso-laterale, anche una modica congestione bilaterale. La trachea presentava la mucosa integra.

I sacchi aerei, così come i polmoni, come confermato anche dalla prova docimastica, si presentavano espansi, a testimoniare sia l'integrità degli stessi, sia un decesso avvenuto durante una fase inspiratoria.

A carico del cuore, il sacco pericardico appariva modicamente ispessito; al taglio, tra i due foglietti si notava una modica quantità di liquido di colorito rosato. L'epicardio si mostrava di colore diffusamente bianco-grigiastro, maggiormente evidente a livello del solco interventricolare. All'esame interno, l'endocardio valvolare era lievemente ispessito. All'interno delle cavità cardiache, così come dei grossi vasi, risaltava la presenza di coaguli rossi, a stampo.

I restanti organi apparivano macroscopicamente indenni.

Durante l'esame necroscopico venivano fissati, per indagini microscopiche, varie porzioni dei seguenti organi: ingluvie, stomaco, intestino, trachea, polmoni, reni, fegato, milza, cuore, muscolo scheletrico, borsa di Fabrizio, ovaio, surrene e pancreas.

Su sezioni paraffinate di fegato, si eseguiva anche una tecnica istochimica per rivelare l'eventuale presenza di metalli pesanti, seguendo il metodo al solfuro di Piombo (con la metodologia di Timm).

Sempre nel contesto del suddetto esame, al fine dell'espletamento di indagini di ordine chimico-tossicologico, nonché parassitologico, batteriologico e virologico, venivano prelevati vari campioni e porzioni di organi quali: contenuto dell'ingluvie e ingluvie p.d., intestino, stomaco, rene, fegato, cistifellea repleta di bile e muscolo scheletrico.

### 3. Risultati

Le indagini di ordine microbiologico davano esito negativo e quelle di natura chimico-tossicologica, come si può evincere dalle tabelle 1 e 2, mettevano in risalto la presenza di residui di alcuni metalli pesanti negli organi esaminati, con particolare riferimento al Piombo, presente nel fegato.

Le indagini istopatologiche, effettuate ricorrendo a metodiche routinarie di microscopia otti-

**Tab. 1** - Risultati degli esami chimico-tossicologici.

Pesticidi organo-clorurati	negativo
Esteri fosforici	negativo
P.C.B.	negativo
Erbicidi	negativo

ca, hanno evidenziato in tutte le sezioni degli organi e degli apparati esaminati, fenomeni autolitici e artefatti strettamente correlati al congelamento della carcassa.

Le uniche alterazioni osservate sono state quelle a carico dell'intestino, dei polmoni, del pericardio e dei muscoli scheletrici.

Infatti, a carico dei diversi tratti dell'intestino, si sono osservati quadri riconducibili ad una forma lievissima di enterite catarrale.

A carico dei polmoni risaltava un lieve ispessimento della parete dei bronchi terziari, unitamente a quadri di iperemia passiva.

Il cuore mostrava soltanto un lieve ispessimento del pericardio, mentre completamente assenti risultavano i fenomeni infiammatori.

Nelle sezioni allestite da vari muscoli scheletrici e segnatamente dai distretti prossimi alla sede in cui sono stati repertati i pallini da caccia, le alterazioni riscontrate erano rappresentate da aree circoscritte in preda a degenerazione ialina delle fibre.

La metodica istochimica per la rivelazione dei metalli pesanti dava un risultato positivo, mettendo in evidenza numerosi granuli puntiformi, di colore fra marrone scuro e nero, in sede sia intra- che extra-citoplasmatica, maggiormente evidenti in prossimità dei distretti vascolari e dei dotti biliari.

### 4. Discussione

Diciamo subito che la *causa mortis* del soggetto esaminato era da ricondurre sicuramente ad un collasso cardio-circolatorio conseguente ad uno shock traumatico indotto da un colpo d'arma da fuoco. Non vi è dubbio alcuno che l'aquila sia stata investita da uno sparo partito da un fucile da caccia e che, una volta raggiunto il suolo, non è stata più in grado di rialzarsi in volo.

Comunque, anche se i pallini non hanno lesso parti vitali dell'animale, questa, per una diretta conseguenza, è stata sottoposta ad uno shock non indifferente; è noto infatti che gli animali selvatici sono molto più sensibili ai traumi di qualsiasi genere rispetto a quelli domestici (Fairbrother *et al.*, 1996). Analoga interpretazione eziologica si potrebbe invocare per spie-

Tab. 2 - Presenza di metalli pesanti.

	Piombo (mg/kg)	Cadmio (mg/kg)	Cromo (mg/kg)
Muscolo	0,39	0,81	0,087
Duodeno	0,84	0,29	0,11
Retto	0,96	0,36	0,13
Fegato	3,4	0,79	0,18
Ingluvie	0,17	0,34	0,057

gare l'origine dei fenomeni diarroici segnalati nell'anamnesi e successivamente confermati dai reperti sia macro che microscopici osservati nel corso dell'esame dell'apparato gastro-enterico.

Le indagini anatomo-istopatologiche, unitamente a quelle di laboratorio, variamente indirizzate, hanno, quindi, permesso di escludere la presenza di alterazioni patologiche *intra-vitam* tali da evocare l'azione diretta o indiretta di vari agenti patogeni viventi.

Da non sottovalutare, però, anche se di difficile interpretazione, a nostro parere, i valori, alquanto anomali, relativi soprattutto alla presenza di residui di piombo nel fegato, anche in relazione al fatto che, a tutt'oggi, non si conoscono i parametri di metalli pesanti compatibili per la sopravvivenza di tali animali.

I nostri valori, potrebbero trovare riscontro nei diversi pallini da caccia rinvenuti a livello delle masse muscolari, dove l'ambiente acido, riconducibile ad un attivo metabolismo correlato ad una più spiccata attività motoria del rapace, avrebbe potuto legare tale elemento rendendolo facilmente assorbibile.

A tal proposito, ben si conoscono quanta importanza e quale ruolo giocano i pallini di piombo ingeriti dagli uccelli insieme alle granaglie e l'effetto a livello gastrico, dove la presenza dei succhi determina la formazione di sali di piombo che vengono facilmente assorbiti dall'organismo (Leighton, 1989).

Tra l'altro non ci sentiamo neanche di escludere aprioristicamente che, la presenza di Pb a livello epatico, possa essere collegata verosimilmente all'ingestione, nel tempo, di prede a loro volta abbattute o ferite durante la caccia, anche se apparentemente la tossicosi da piombo nei rapaci non è comune, non esistendo in questi uccelli il pascolamento.

A tal proposito, comunque, non dobbiamo dimenticare alcuni dati bibliografici relativi ad una moria di cento Aquile calve, la cui fonte

era stata identificata nei pallini di piombo rinvenuti nelle carni delle loro prede, in particolare oche e anatre colpite, ma non uccise dai cacciatori (Leighton, 1989), o episodi analoghi segnalati in altri rapaci, quali un Condor delle Ande, un Falcone della prateria e un'altra Aquila calva, dove tale tossicosi veniva evocata quale causa della morte dei soggetti esaminati (Jacobson *et al.*, 1977).

Nonostante ciò, però, non ci sentiamo di annoverare il reperto fin qui descritto tra le tossicosi da piombo, soprattutto in riferimento, da un lato, all'assenza di pallini da caccia nei vari segmenti del tubo gastro-enterico e, dall'altro, alla mancanza di alcuni quadri lesivi che potremmo considerare patognomici del saturnismo, quali le alterazioni nefropatiche, l'epatosi di tipo prevalentemente steatosico, ecc. (Del Bono, 1970), nonostante la positività alla tecnica di Timm, la quale ha confermato i risultati chimico-tossicologici.

Quanto fin qui riferito, a nostro parere, potrebbe essere stato aggravato, più verosimilmente, anche da alterazioni di natura metabolica, instauratisi solo secondariamente e riconducibili ad evenienze stressogene plurifattoriali. Tali modificazioni potrebbero essere identificate nelle varie situazioni creatisi dopo la cattura: per esempio, le varie fasi di manipolazione o i luoghi di ricovero dove è stato tenuto in osservazione il soggetto. E' ampiamente noto, infatti, come possa incidere negativamente la scarsa dimestichezza con animali di questo tipo, anche in virtù delle frammentarie conoscenze fisiologiche e cliniche, non disgiunte da quello che può essere il vero e proprio "management", che ruota attorno a tali soggetti (contatto con più persone che, per lo più, non hanno alcuna dimestichezza con gli uccelli selvatici, contenimento inidoneo e forzato, eccessive manipolazioni, ambiente sconosciuto) (Raimondi, 1998). Da questa nostra esperienza, pensiamo di poter

avanzare utili indicazioni, alcune di ordine generale, altre particolare:

- prima di tutto, gli animali catturati o trovati ancora vivi devono essere manipolati con molta cura, senza far sbattere loro le ali;
- i soggetti devono essere messi, nel più breve lasso di tempo, in gabbie, prive di angoli vivi, di dimensione almeno 3-4 volte superiore all'apertura alare, munite di una fine rete in plastica o comunque non di materiale duro e sempre di colorito verdastro;
- le gabbie devono essere custodite in ambienti non rumorosi, all'oscuro o in penombra, cercando di far sì che sia sempre la stessa persona ad avvicinarsi;
- non tentare di alimentare i soggetti forzatamente, bensì preoccuparsi di somministrare alimenti liquidi ed arricchiti, preferibilmente, con sali minerali e vitamine, lasciandone sempre a disposizione alcuni freschi;
- per gli animali trovati morti, sarebbe buona norma non congelare mai la carcassa, ma conservarla a temperature comprese tra 0 e +5°C;
- sottoporre il soggetto ad un esame necro-

scopico nel più breve lasso di tempo possibile dall'*exitus*, da parte di un Veterinario del S.S.N. o di un centro di ricerca, in quanto, su tali animali, le indagini devono sempre essere variamente articolate.

### 5. Ringraziamenti

Il presente lavoro è inserito in un progetto di ricerca a carattere nazionale sostenuto con fondi MURST.

### Bibliografia

- FAIRBROTHER A., LOCKE L.N. & HOFF L.G. (1996) - *Noninfectious Diseases of Wildlife*. Second Edition. Manson Publishing - The Veterinary Press, London.
- DEL BONO G. (1970) - Il saturnismo degli uccelli acquatici. *Ann. Fac. Med. Vet. di Pisa*, 23: 102.
- JACOBSON E., CARPENTER J.W. & NOVILLA M. (1977) - Suspected lead toxicosis in a Bald Eagle. *JAVMA*, 171, 9: 952.
- LEIGHTON F.A. (1989) - Pollution and wild birds: North America in the 1980's. *Can. Vet. J.*, 30: 783.
- RAIMONDI S. (1998) - Primum non nocere. *La Settimana Veterinaria*, 178: 9.



# NOTES ON THE INFLUENCE OF HUMAN ACTIVITIES ON SEA CHELONIANS IN SICILIAN WATERS

Russo G.\*, Di Bella C.\*\*, Loria G. R.\*\*\*, Insacco G.\*\*\*, Palazzo P.\*, Violani C.°, Zava B.\*

\* Wilderness, Studi ambientali, via Cruillas 27, 90146 Palermo, Italy.

\*\* Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia "A. Mirri", via Rocco Dicillo 4, 90129 Palermo, Italy.

\*\*\* Fondo Siciliano per la Natura, c/o Museo Civico di Storia Naturale, Piazza delle Erbe, 97013 Comiso (Ragusa), Italy.

° Dipartimento di Biologia Animale, Università degli Studi, Piazza Botta 9, 27100 Pavia, Italy.

**Abstract** - In the literature there is strong evidence that human activity is seriously affecting once abundant sea turtle populations. Much of the impact is a consequence of the increased exploitation of marine and coastal waters. Sea chelonians are threatened, as a matter of fact, by the alteration of their suitable habitats (in particular, the nesting beaches), by the ingestion of nonbiodegradable debris, by entanglement in discarded fishing gear, collisions with boats, marine pollution, trawling capture and by pelagic and coastal fishing activities. Since 1994 to the present the authors have collected information about 121 individuals of Loggerhead *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758), three individuals of Leatherback *Dermochelys coriacea* (Vandelli, 1761) and one Green turtle *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758), all found along the Sicilian coasts. The collected data (anamnestic and post-mortem) have revealed a conspicuous impact due to longline fishing activities. Toxicological investigations conducted on 10 specimens of *Caretta caretta* have shown contamination levels by heavy metals (Pb, Cd, Cr, As, Se) in the liver, kidneys, lungs, heart, muscle and spleen.

**Riassunto** - In letteratura sono ampiamente documentate le attività umane che danneggiano le popolazioni di cheloni marini, un tempo abbondanti. Gran parte dell'impatto è dovuto all'aumentato sfruttamento delle acque marine costiere. Le tartarughe marine infatti sono minacciate da diversi fattori come le alterazioni dell'habitat (in particolare le spiagge di ovodeposizione), l'ingestione di rifiuti non biodegradabili flottanti, la possibilità di impigliarsi in dispositivi da pesca abbandonati, la collisione con natanti, l'"inquinamento" marino, la cattura con reti a strascico e le attività di pesca pelagica costiera. Dal 1994 ad oggi gli autori hanno raccolto dati su 121 esemplari di *Caretta caretta*, tre individui di *Dermochelys coriacea* e una *Chelonia mydas*, tutti rinvenuti lungo le coste siciliane. I dati disponibili (anamnestici e autoptici) hanno evidenziato un cospicuo impatto dovuto alle attività di pesca con palangaresi. Gli esami tossicologici effettuati su 10 esemplari di *C. caretta* hanno rivelato livelli di contaminazione da metalli pesanti (Pb, Cd, Cr, As, Se) nel fegato, reni, polmoni, cuore, muscolo e milza.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 37 - 41

## 1. Introduction

Among the species of sea turtles recorded in the Mediterranean Sea, only three, i. e. Green turtle *Chelonia mydas* (L., 1758), Loggerhead *Caretta caretta* (L., 1758) and Leatherback *Dermochelys coriacea* (Vandelli, 1761) are considered not exceptional for the whole basin (Gasc *et al.*, 1997; Bradai & El Abed, 1998; Camiñas, 1998). *C. caretta* is the most frequent chelonian in the Italian Waters, with egg-laying sites localized in Southern Italy, Sardinia, Sicily and in the smaller islands surrounding Sicily (di Palma, 1978; di Palma *et al.*, 1989; Groombridge, 1994); *C. mydas* and *D. coriacea*, on the contrary, have been recovered occasionally (Groombridge, 1994; Doria, 1998; Gianguzza *et al.*, 2000).

Today all the sea turtle species are considered globally endangered. Undoubtedly human interference is the cause of this collapse (Lutcavage *et al.*, 1997). Sea chelonians are threatened, as

matter of fact, by the alteration of their suitable habitats (in particular, the nesting beaches), by the ingestion of nonbiodegradable debris, by the entanglement in discarded fishing gear, collisions with boats, marine pollution, trawling capture and by pelagic and coastal fishing activities.

Here we report on the influence exerted by several human activities directly or indirectly correlated with the survival of turtle populations; in particular, we report damages due to some fishing equipment, such as longline (drift and bottom longlines), driftnets, trammel nets and trawl net fishing, the finding of non-biodegradable debris inside the turtles' digestive tract, and the frequency of injuries due to abandoned fishing gear or to collision with boats.

## 2. Materials and Methods

From June 1994 to May 1998 we have collected biometric, anamnestic and post-mortem

data from 125 sea turtles (121 *C. caretta*, three *D. coriacea* and one *C. mydas*), within the monitoring and research activities by the Centro Recupero Fauna Selvatica (Catania) of the Fondo Siciliano per la Natura, Wilderness Studi Ambientali of Palermo and the Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia. Most animals came from fortuitous captures in the open sea, by means of different fishing tools and from findings of stranded individuals along the coasts of Sicily. Other turtles, wounded or in any case unable to dive, were recovered by yachtsmen or fishermen in the open sea. As regards biometrics, the carapace length was recorded following the Curve Line Method as reported by Márquez (1990) (CLCL, Curve Line Carapace Length); the weight was recorded using dynamometers. We must stress, however, that the finding of specimens has been totally fortuitous and makes our sample non homogeneous; as a matter of fact, it is correlated with professional fishing and yachting activities, which are performed in various ways and in different sites and periods of the year.

Furthermore, ten stranded specimens of *C. caretta* found dead have been examined for the detection of heavy metals in liver, kidneys, lungs, heart, muscle and spleen.

Concentrations of Pb, Cd, Cr, As and Se have been established by means of atomic absorption spectroscopy (Zeeman/ 3030) in graphite furnace, after incineration and calcination in muffle furnace. Mercury was detected by the cold vapours technique after reduction with SnCl<sub>2</sub>. In particular, arsenic was determined using the standard addition method. Methods used have the following detectability limits (expressed in µg/kg of dry material): Pb = 20; Cd = 2; Cr = 10; Hg = 30; As = 50; Se = 50. Age determination of the specimens tested for toxicological examinations was performed by means of histological sections of the humerus, according to the scheletochronological method proposed by Zug (1991).

### 3. Results and Considerations

The frequency of findings of the three turtle species (121 *C. caretta*, three *D. coriacea* and one *C. mydas*) as reported by us is indicative of their real presence in Italian waters.

#### *Dermochelys coriacea*

In an individual (CLCL: 132 cm; estimated weight approximately: 200 kg) caught with a surface longline on 2 August 1996, 4 miles south of Porto Palo (Trapani), a hook was found em-

bedded in the left front limb. Another individual (CLCL: 131 cm; estimated weight approximately: 180 kg), captured on 23 July 1996, 18 miles south east of Siracusa, was set free from some packing bands in which the animal got tangled up. For the third specimen (CLCL: 145 cm; weight: 260 kg), found dead and stranded at Marinella di Selinunte (Trapani) on 19 April 1996, the autopsy has ascertained that it died by drowning. This turtle was found ten days earlier entangled in a trammel net; the fishermen brought it ashore while it was agonising and released it pushing it forcibly into the water.

We believe it useful to add some data referring to the finding of this species in Sicilian waters during the past years:

- a male individual stranded dead at Mazara del Vallo (Trapani) on 5 April 1988. The post-mortem examination revealed the digestive system completely clogged up by non-biodegradable debris (Jereb and Ragonese, 1990). The specimen was prepared and it is now in the collection of I.R.M.A.- C.N.R., Mazara del Vallo;

- a specimen captured by a driftnet from a fishing motorboat off Ustica island on 11 May 1989 (estimated weight: approximately 300 kg) and drowned by the negligence of the crew, during its transfer to the little harbour of Arenella, Palermo. The specimen was prepared and deposited at the Ripartizione Faunistica Venatoria, Palermo;

- a specimen (CLCL: 137; weight: 230 kg) captured off Lampedusa Island on 10 July 1992. The autopsy performed at the Istituto Zooprofilattico of Palermo revealed the presence of approximately 2 kg of nonbiodegradable debris (newspapers and plastics) in the stomach, as well as necrotic areas in the intestinal anseae. Its carapace is preserved at the Museo Civico di Storia Naturale, Comiso, Ragusa;

- an individual caught alive by a gillnet near Termini Imerese (Palermo) on 24 June 1996 (length: 185; weight: 250-300 kg; see Camiñas, 1998).

#### *Chelonia mydas*

An individual of this species (CLCL: 37.8 cm; weight: 5.4 kg) was captured by a scuba diver off the locality Aspra (Palermo) on 11 May 1998; it showed clear abrasion markings along its neck and the edge of the front flippers, probably caused by a fishing net. About a month after its release, the same turtle was captured again off la Bandita (Palermo), a few miles from the Aspra coast. After the second

capture, a careful checking of the reptile showed the presence of a small fish hook, approximately one centimetre long, within the intestine. During a month's keeping in aquarium, the turtle evacuated the hook and a mass of entangled nylon line (Gianguzza *et al.*, 2000). The ingestion of fishing hooks by *C. mydas* (a mainly herbivorous species) is certainly an occasional event; as a matter of fact, the foreign body found was similar to those used for angling from a fixed position on the coast, and it could have been ingested by accident during the turtle's foraging activity.

### *Caretta caretta*

Most of the specimens observed were juveniles or subadults, having a CLCL of less than 70 cm (*sensu* Dodd, 1988); the frequency of the recorded size classes is shown in Fig. 1. Out of 121 specimens the 61.1 % ( $n = 74$ ) were collected alive in the open sea, in difficulty or in altered health conditions; the remaining 38.9 % ( $n = 47$ ) were formed by individuals found stranded along the coast (all deceased except three which were subsequently rehabilitated in the regional recovery centres of Messina and Catania. Our observations show that a conspicuous fraction of the sample is formed by individuals which had been caught by a trawl line (36.4 %;  $n = 44$ ). The recovered hooks belonged mainly to the device called "conzo", used for the capture of swordfishes (*Xiphias gladius* L.), more rarely to the bottom longline type. We agree with Argano *et al.* (1992), whose data, concerning the whole Italian coastlines from 1981 to 1990, show that the trawl line is one of fishing gears with the greatest impact on the population of sea turtles.

The 7.4 % ( $n = 9$ ) are represented by Loggerheads captured with bottom and surface nets, while the lowest percentage concerns captures by means of trawl nets (1.6 %,  $n = 2$ ). The latter data, however, are certainly not representative of the real influence exerted by drag fishing on the populations of *C. caretta*, and in general on the other species of sea turtles (Bradai & El Abed, 1998); as a matter of fact, data reported by Laurent and Lescure (1991), concerning the Tunisian coasts, reveal a high impact at captures of 883, 2122 and 2913 Loggerheads (for the period January-April) respectively in the years 1986, 1987 and 1988; all these animals were destined for human consumption! Additional information collected by us at Mazara del Vallo (Trapani), suggest not negligible frequencies of captures

regularly carried out by fishing boats, although we do not possess reliable estimates. The impact caused by driftnets used for the capture of swordfishes ("spadara") seem to be less relevant (Di Natale, 1996). As regards the impact exerted by the different fishing gear, we must stress the collaboration offered by fishermen from several Sicilian marines (in particular, small marines) who actively volunteered to take part in the rescue of turtles in difficulty, contacting the competent authorities for the transfer of turtles to the nearest recovery centres. As a matter of fact, we noticed a certain involvement concerning the problems of sea turtles conservation, which would be useful to encourage both with effective education activity and with specific study campaigns directly involving workers in the fishing sector.

Furthermore, the fraction of specimens captured by hand in the open sea is particularly significant. These turtles showed a type of behaviour described by observers as "inability to dive" (18.2 %;  $n = 22$ ). These individuals did not show any symptom which could reveal a pathological condition, even after an in-depth diagnostic examination. After several days of keeping in aquarium, however, they evacuated nonbiodegradable materials together with faeces.

Such a behaviour, previously observed by Bjorndal (1997), is certainly due to the accumulation of digestion gases in the intestinal tract, not adequately canalized because of obstructions by nonbiodegradable debris. This hypothesis was confirmed by the results of post-mortem examination on 44 specimens of *C. caretta*; the 15.9 % ( $n = 7$ ) of these Loggerheads showed intestinal occlusions, caused by the ingestion of foreign bodies of various nature, such as pumice

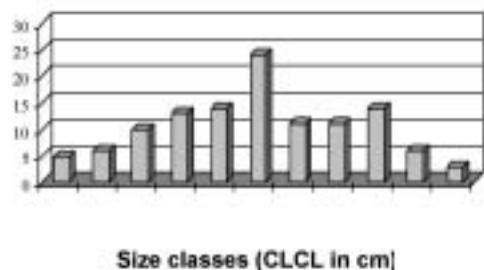


Fig. 1 – Frequency for different size classes of *Caretta caretta* turtles recovered during the period considered (CLCL expressed in cm).

**Tab. 1** - Average concentrations of some heavy metals found in organs and tissues of *Caretta caretta*, expressed in ppm (mg/kg of dry material) and relative standard deviation, minimum and maximum values (n. r. = not revealed).

		Heart	Kidneys	Liver	Muscle	Lungs	Spleen
Lead Pb	Mean	1.28667	4.625714	2.983	1.568	2.70375	0.84
	St. dev.	0.45495	4.519111	2.206143	0.493171	2.766369	0.155563
	Min	0.75	1.71	1.18	1.05	0.93	0.73
	Max	1.95	14.38	8.34	2.43	9.27	0.95
Cadmium Cd	Mean	0.96	6.751429	2.495	1.226	1.03375	0.67
	St. dev.	0.21679	2.310183	1.526734	0.517906	0.57654	0
	Min	0.72	3.56	1.22	0.47	0.24	0.67
	Max	1.31	9.34	5.68	2.21	1.96	0.67
Chromium Cr	Mean	0.25778	0.528571	0.495	0.344	0.41125	0.23
	St. dev.	0.05540	0.10854	0.146837	0.065184	0.233815	0.113137
	Min	0.18	0.37	0.28	0.24	0.24	0.15
	Max	0.35	0.65	0.69	0.43	0.89	0.31
Mercury Hg	Mean	0.52778	1.108571	1.091	1.682	1.515	0.455
	St. dev.	0.30817	0.333788	0.32566	1.066342	0.570363	0.162635
	Min	0.29	0.86	0.67	0.21	0.86	0.34
	Max	1.31	1.84	1.76	4.28	2.55	0.57
Arsenic As	Mean	0.01744	0.017714	0.0065	n. r.	0.010625	n. r.
	St. dev.	0.00371	0.005707	0.006964		0.006781	
	Min	0.013	0.01	0		0	
	Max	0.024	0.026	0.015		0.016	

stones, pieces of wood and plastics, fragments of electrical wires, candy wrappings, newspaper bits, tar, cellophane, etc. This material, though not directly correlated with the animals' mortality, could nonetheless contribute to alter their health state, exposing them to the danger of collision with boats and increasing predation risk, as well as the chance of incidental capture in some commercial fisheries. It has also been suggested that ingested plastics could result in PBC accumulation (Bjorndal, 1997).

Additional recorded data are represented by the frequency of specimens found with an amputated flipper (7.4 %; n = 9). Though we are aware that some species of sharks can amputate the limbs of sea turtles (Dodd, 1988), we must remark that the loss can also be caused by necrotic processes, triggered by lesions due to the entanglement in discarded gear (such as nets or nylon lines). Moreover, these lesions have been observed in ten specimens of *C.*

*caretta* collected during our investigations (8.3 % of the 121 Loggerheads considered).

Studies on the contamination levels by heavy metals and pesticides in adult Loggerheads are almost lacking. Chronic pollution from industrial or agricultural sources has been linked with immune suppression, raising a concern for sea turtles. In particular, marine turtle fibropapilloma disease is currently associated with a viral infection; however, the expression of the disease may be mediated by a compromised immune system (Herbst, 1994; Lutcavage *et al.*, 1997). *C. caretta* is primarily carnivorous, feeding on a wide variety of food items, especially molluscs (Dodd, 1988; Russo *et al.*, 1994). In addition, it can achieve a life span of more than 50 years, and has a potential to bioaccumulate heavy metals and pesticides.

Scheletochronological analysis carried out on humerus sections has established that the age reached by the turtles was included between 4

and 9 years. Results by chemical analyses are shown in Table 1. Selenium content was always below the limit of detectability of the method. Contamination levels obtained show altogether lower values than those reported by Storelli et al. (1996), except for the selenium content, the concentration of which reached 15.88 mg/kg of dry material in the liver (Di Bella et al., 1998).

#### 4. Acknowledgements

We are grateful to all those who have collaborated with us and, in particular, to Santo Caracappa and Antonino Corrao (Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia), Maria Gabriella di Palma (Soprintendenza Beni Culturali e Ambientali di Palermo), Antonio Di Natale (Centro Studi Cetacei), Paolo Palazzo e Vanessa Marino (Wilderness - Studi ambientali), Luigi Lino, Salvo Rubbino, Antonello Mancuso, Giuseppe Coci and Valeria Reitano (Centro Recupero Fauna Selvatica of the Fondo Siciliano per la Natura), Capitanerie di Porto di Palermo, Mazara del Vallo, Porticello, Termini Imerese, Terrasini and Catania, Uffici della Ripartizione Faunistica Venatoria of Palermo and of Catania and Ufficio CITES della Regione Siciliana.

#### References

- ARGANO R. N., BASSO R., COCCO M. & GEROSA G. (1992) - Nuovi dati sugli spostamenti di tartaruga marina comune (*Caretta caretta*) in Mediterraneo. *Boll. Mus. Ist. biol. Univ. Genova*, 56-57 (1990-91): 137-163.
- BRADAI M. N. & EL ABED A. (1998) - Presence de la Tortue Luth *Derموchelys coriacea* dans les eaux tunisiennes. *Rapp. Comm. int. Mer Médit.*, 35: 382-383.
- BJORNDAL K.A., 1997 - *Foraging Ecology and Nutrition of Sea Turtles*, pp. 199-231. In: Lutz P. L. & J. A. Musick (eds.), *The Biology of Sea Turtles*. CRC Press, pp. 432.
- DI BELLA C., CORRAO A., CARACAPPA S., DI PALMA M. G., RUSSO G. & ZAVA B. (1998) - Indagini sulla presenza di metalli pesanti in *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758). *Biol. Mar. Medit.*, 5 (1): 794-796.
- DI PALMA M. G. (1978) - Notizie sulle tartarughe marine in Sicilia (Reptilia, Testudines). *Naturalista sicil.*, (4) 2 (1-2): 1-6.
- DI PALMA M. G., LO VALVO F. & ZAVA B. (1989) - Indagini sulla ovodeposizione di *Caretta caretta* (L., 1758) in Sicilia (Reptilia, Chelonia). *Naturalista sicil.*, (4) 13 (1-2): 53-59.
- DI NATALE A. (1996) - L'uso delle reti derivanti di tipo "spadara": analisi della situazione. *Biol. Mar. Medit.*, 3 (1): 360-364.
- DODD G. J., Jr. (1988) - Synopsis of the biological data on the Loggerhead Sea Turtle *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758). U. S. Fish Wildl. Serv., *Biol. Rep.*, 88 (14), 110 pp.
- DORIA G. (1998) - Primo reperto di *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) per il Mar Ligure (Reptilia, Testudines, Cheloniidae). *Dortiana*, 7 (303): 1-4.
- CAMIÑAS J. A. (1998) - Is the Leatherback (*Derموchelys coriacea* Vandelli, 1761) a permanent species in the Mediterranean Sea? *Rapp. Comm. int. Mer Médit.*, 35: 388-389.
- GASC J. P., CABELA A., CRNOBRNJIA-ISAILOVIC J., DOLMEN D., GROSSENBACHER K., HAFFNER P., LESCURE J., MARTENS H., MARTINEZ RICA J. P., MAURIN H., OLIVEIRA M. E., SOFIANIDOU T. S., VEITH M. & ZUIDERWIJK A. (eds.) (1997) - *Atlas of Amphibians and Reptiles in Europe*. Societas Europaea Herpetologica & Muséum National d'Histoire Naturelle (IEGB/SPN), Paris, 496 pp.
- GIANGUZZA P., RUSSO G., VIOLANI C. & ZAVA B. (2000) - Ascertained record of the Green Turtle *Chelonia mydas* (L., 1758) in the Tyrrhenian Sea. *Atti Soc. ital. Sci. nat. Museo civ. Stor. nat Milano*, 141: 19-22.
- GROOMBRIDGE B. (1994) - Marine turtles in the Mediterranean: distribution, population status, conservation. *Nature and Environment*, No. 48, Council of Europe Press, 100 pp.
- HERBST L. H., 1994 - Fibropapillomatosis of marine turtles. *Annu. Rev. Fish Dis.*, 4: 389.
- JEREB P., RAGONESE S. (1990) - On a specimen of the Leatherback Turtle, *Derموchelys coriacea* (Linnaeus, 1766), stranded at Mazara del Vallo (South-West Sicily). *Rapp. Comm. int. Mer Médit.*, 32 (1): 239.
- LUTCAGE M. E., PLOTKIN P., WITHERINGTON B. & LUTZ P. L. (1997) - *Human Impacts on Sea Turtle Survival*, pp. 387-409. In: Lutz P. L. & J. A. Musick (eds.), *The Biology of Sea Turtle*. CRC Press.
- LAURENT L. & LESCURE J. (1994) - L'hivernage des Tortues Caouannes *Caretta caretta* (L.) dans le Sud Tunisien. *Rev. Ecol. (Terre Vie)*, 49: 63-86.
- MÁRQUEZ R. M. (1990) - *FAO Species Catalogue, Vol. 11: Sea turtles of the world. An Annotated and Illustrated Catalogue of Sea Turtle Species known to Date*. FAO Fisheries Synopsis. No. 125, Vol. 11. Rome, FAO. 81 pp.
- PRITCHARD P. C. H. (1997) - *Evolution, Phylogeny, and Current Status*, pp. 1-28. In: Lutz P. L. & J. A. Musick (eds.), *The Biology of Sea Turtles*, CRC Press.
- RUSSO G., GIANGUZZA P. & ZAVA B. (1999) - Osservazioni sulla dieta di *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758) in Mediterraneo. *Biol. Mar. Medit.*, 6 (1): 602-604.
- STORELLI M. M., CECI E. & MARCOTRIGIANO G. O. (1996) - Distribution of heavy metals and organic residues in some tissues of *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758) specimen beached along Adriatic Sea. *Abstract of 31st European Marine Biology Symposium, Saint Petersburg 1996*, p. 24.
- ZUG, G.R. (1991) - Age determination in turtles. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, *Herpetological Circular No. 20*, 28 pp.



# VALUTAZIONE DELLO STATO SANITARIO DI TURDIDI DA RICHIAMO IN GABBIE DI DIMENSIONI TRADIZIONALI O MAGGIORI. PARTE I: ASPETTI MORFOLOGICI, PARASSITOLOGICI E MORTALITA'

Gallazzi D., Grilli G., Concina E., Ripepi P., Granata R., Vigorita V.\*

Istituto di Anatomia Patologica Veterinaria e Patologia Aviare - Università degli Studi di Milano - Via Celoria 10 - 20133 MILANO

\* Regione Lombardia - Servizio Foreste, Fauna ed Ambiente Rurale - P.zza IV Novembre, n° 5 - 20124 MILANO

**Riassunto** - La detenzione in gabbia di uccelli del genere *Turdus* a scopo di richiamo è consentita dalla legge n° 157 dell'11 febbraio 1992 ed avviene secondo modalità tradizionali in gabbie di dimensioni standard indipendentemente dalla specie considerata. Tuttavia, in termini di spazio, mancano dati obiettivi riguardanti le necessità delle singole specie perché sia garantito un certo grado di benessere. Abbiamo voluto valutare in quattro specie di uccelli del genere *Turdus* (Cesena, Merlo, Tordo bottaccio e Tordo sassello) se la detenzione in gabbie di dimensioni tali da consentire anche alle specie più grosse l'apertura delle ali fosse preferibile a quelle in gabbie standard. A tal fine sono stati utilizzati 10 soggetti adulti per specie, catturati durante il passo e quindi suddivisi a caso (solo i merli risultavano tutti di sesso maschile) in 2 gruppi collocati in gabbie di dimensioni diverse e rispettivamente per il gruppo A (gabbie standard): 29,5 x 22 x 23 cm (L x I x h), mentre le misure del gruppo B erano pari a: 43 x 38 x 28 cm. Dopo due mesi di adattamento alla cattività, per un intero anno gli animali sono stati giornalmente seguiti e mensilmente controllati per quanto riguarda l'aspetto morfologico (peso, stato di impiumazione, eventuali lesioni traumatiche, ectoparassiti), le endo-ectoparassitosi (parassiti ematici ed enterici), la mortalità. Ad ogni controllo mensile è stato effettuato un prelievo ematico a tutti i soggetti per la valutazione degli emiparassiti. Dal punto di vista morfologico, già dal primo controllo, non si sono notate differenze relative allo stato di impiumazione, che risultava scadente in tutte le specie. In particolare si presentavano spezzate alla base le timoniere e molto rovinate le remiganti primarie. Tale situazione è migliorata temporaneamente (settembre-ottobre) in tutte le specie dopo la muta estiva. Paradossalmente le rotture delle penne e l'inevitabile imbrattamento fecale delle piume ha sfavorito lo sviluppo degli acari e dei mallofagi, presenti in pochi soggetti ed in basso numero rispetto a quanto normalmente riscontrato nei conspecifici appena catturati. Il peso dei merli e delle cesene è risultato essere sempre statisticamente più elevato nei soggetti del gruppo B, i tordi sasselli e i bottacci invece non hanno mostrato variazioni di rilievo tra i 2 gruppi. Sporadiche e presenti in tutte le specie le lesioni traumatiche alla base del becco e soprattutto ai cuscinetti plantari, legate verosimilmente alla maggiore irrequietezza di alcuni soggetti: in questi casi non si sono dimostrate meno lesive le barre in plastica rispetto quelle in metallo verniciato. Nel corso del periodo sperimentale le lesioni podali sono state causa della morte di due dei quattro soggetti deceduti, negli altri due casi si è trattato di incidenti (rottura della giugulare in corso di prelievo ematico). L'entità delle endo-ecto parassitosi non è apparsa mai tale da influenzare in modo negativo lo stato sanitario degli animali, indipendentemente dal tipo di gabbia, a motivo della progressiva diminuzione della prevalenza parassitaria (qualche *Leucocytosoon* spp., microfilarie e *Haemoproteus* spp. a livello ematico ed *Isospora* spp. e cestodi a livello enterico). In conclusione in questa prima prova le differenti dimensioni delle gabbie nelle quali sono stati mantenuti i soggetti non sembrano avere influito sui parametri controllati ad anche lo scadente stato di impiumazione, elemento immediatamente percettibile e impressionante) è stato costante nei 2 gruppi.

**Abstract - Evaluation of health conditions of decoy-birds (*Turdus* spp.) kept in cages of two different dimensions.**

**Part I: morphological and parasitological parameters and mortality.** To evaluate the influence cage dimensions on welfare of wild birds caged as decoys, the authors examined, for one year, 40 adult birds of genus *Turdus* (10 Fieldfare, *T. pilaris*, 10 Blackbird, *T. merula*, 10 Song Trush, *T. philomelos*, 10 Redwing, *T. iliacus*). The birds were randomly divided among cages of traditional size (29,5 x 22 x 23) and of larger size (43 x 38 x 28 cm). The birds were checked monthly for: morphological condition (weight, feathers, ecto-parasites, skin lesions), presence of external and internal parasites, and mortality. Blood samples were collected from the jugular vein to determine the presence of haematozoa. Poor feather condition was found just after the first month in all the 4 species and in both types of cages. Only in September-October a little improvement of the plumage was seen in consequence of moult. In comparison with the free-living birds of the same species, the birds with broken or dirty feathers had very few mites and mallophaga. Fieldfares and Blackbirds kept in larger cages were heavier; no difference was seen for Song Trush and Redwing. Skin lesions of traumatic origin were present in all species. Four birds, one for each species, died during the year for "bumble foot" disease (2 cases) or jugular vein rupture during blood sampling. Typical endoparasites of free-living birds progressively decreased during the captivity period, but *Cestoda* spp, *Isospora* spp. and *Haematozoa*, were again present at the end of the experiment. In conclusion, our results suggest that different dimension of cages for birds of genus *Turdus* did not influenced the health status of the birds. Poor plumage shown by birds was related to captivity rather than to cage dimensions.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 43 - 57

## 1. Introduzione

La detenzione in gabbia di uccelli a scopo di richiamo è consentita dalla legge n° 157 dell'11 febbraio 1992 (articolo 21, lettera r) che disciplina l'attività venatoria. In Italia è ammessa e praticata la caccia da appostamento (nota come "al capanno"), che tradizionalmente prevede l'utilizzo di uccelli da richiamo, i quali possono essere mantenuti direttamente dal cacciatore in tutti i periodi dell'anno e trasportati durante l'attività venatoria sul luogo di caccia. Gli uccelli selvatici di cui è ammessa la detenzione comprendono anche 4 specie del genere *Turdus* e precisamente: Cesena (*T. pilaris*), Merlo (*T. merula*), Tordo bottaccio (*T. philomelos*), Tordo sassello (*T. iliacus*). Per questi selvatici la detenzione in tutti i Paesi del Mediterraneo è sempre avvenuta, secondo modalità tradizionali, in gabbie di circa 30 cm di lunghezza, alte e larghe poco più di una spanna. Queste dimensioni venivano definite "standard" indipendentemente dalla taglia delle 4 specie considerate. Tali gabbie per il ridotto ingombro si dimostrano, in periodo venatorio, molto adatte al trasporto dei richiami, che ancora oggi è talvolta praticato a spalla, quando le postazioni di caccia sono fissate lungo valichi o siti montani di difficile accesso. Sempre più frequenti sono però le denunce per maltrattamento di animali che i "capannisti" subiscono da parte di privati o associazioni che difendono il benessere animale, in quanto spesso gli uccelli detenuti presentano uno scadente aspetto morfologico, con perdita più o meno marcata della livrea. Più volte, e non solo nel nostro Paese, la questione "benessere" degli uccelli da richiamo è stata sollevata a livello legislativo, giuridico e tecnico. Per quanto riguarda l'Italia, il problema va inquadrato, su base giuridica, alla luce di quanto previsto dalla legge 473 del 22.11.1993 che modifica l'articolo 727 del Codice di Procedura Penale in materia di maltrattamento degli animali. Tale articolo, applicandosi anche a tutte le attività collegate a quella venatoria, ha ingenerato perplessità e difficoltà interpretative relativamente alle corrette dimensioni delle gabbie destinate a contenere i richiami vivi per la caccia da appostamento fisso. Sul problema si è aperto un vivace dibattito, soprattutto a seguito dell'approvazione, da parte della Regione Veneto, di una legge sui richiami vivi e sulle dimensioni delle gabbie per gli stessi, contro la quale si è registrata l'opposizione del Ministero di Grazia e Giustizia. Ne è derivata una fase interlocutoria di approfondimento che ha coinvolto, oltre

al suddetto Ministero, anche quello delle Risorse Agricole, Alimentari e Forestali, quello dell'Ambiente, nonché l'Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica, gli organismi venatori interessati e le Regioni. A queste ultime è attribuita (dall'art. 5 della legge 157/92) la competenza ad emanare norme specifiche in materia, ciononostante non tutte hanno provveduto in merito, tanto che, su proposta della Regione Emilia Romagna (deliberazione n° 1424 del 28.7.97) è stato istituito un gruppo di lavoro interregionale per la determinazione delle caratteristiche delle gabbie da utilizzarsi per la detenzione ed il trasporto degli uccelli da richiamo. A tale scopo il gruppo di lavoro ha concordato sulle seguenti dimensioni minime esterne delle gabbie destinate alle specie del genere *Turdus*: lunghezza 30 cm, larghezza e altezza 25 cm, con il fondo formato da barrette metalliche. È consentito per le gabbie in uso uno scostamento del 15% dalle misure sopra riportate. Le stesse indicazioni erano già presenti nella deliberazione n° 30813 del 8.8.97 della Regione Lombardia.

Queste delibere regionali fissano dunque in modo definitivo i criteri cui attenersi per quanto concerne gli aspetti giuridici della questione. Rimane tuttavia aperta la discussione su quali dati obiettivi si possa fondare, per gli uccelli in cattività, un giudizio sul grado di "benessere" o, per converso, di "maltrattamento". A tale scopo abbiamo mantenuto le 4 specie di turdidi considerate in gabbie di due differenti dimensioni, valutando durante un intero anno solare una serie di parametri morfologici e sanitari con l'intento di trarre da questi dati oggettivi una indicazione di come e quanto la cattività nei due tipi di gabbie influenzi questi parametri. In questa prima parte vengono riferiti gli aspetti morfologici, parassitologici e la mortalità riscontrati durante la prova.

## 2. Materiali e metodi

Per le 4 specie di turdidi di cui è ammessa la detenzione a scopo di richiamo e cioè Cesena, Merlo, Tordo bottaccio e Tordo sassello abbiamo voluto valutare se la detenzione in gabbie di dimensioni tali da consentire anche alle specie più grosse l'apertura delle ali fosse preferibile a quella nelle più piccole gabbie tradizionali. A tal fine 10 soggetti adulti per specie, catturati durante il passo autunnale e mantenuti temporaneamente in gabbie singole di tipo tradizionale, sono stati divisi a caso (solo i Merli risultavano tutti di sesso maschile) in due gruppi omogenei (A e B) e collocati singolarmente

in gabbie di dimensioni diverse. Per il gruppo A le gabbie erano di tipo tradizionale e misuravano 29,5 x 22 x 23 cm (L x l x h) e saranno qui indicate anche come "gabbie piccole", mentre quelle per il gruppo B erano di dimensioni pari a 43 x 38 x 28 cm ("gabbie grandi"). Le gabbie tradizionali avevano le pareti in barrette tonde di plastica, mentre il pavimento era costituito da barrette di filo di ferro; un telo plastificato ne ricopriva la parte superiore. Le gabbie più grandi erano interamente costruite in tondino di ferro verniciato, a parte il soffitto di lamiera.

Le gabbie erano tutte pervie alle deiezioni. Completavano la struttura di entrambi i tipi di gabbia un posatoio orizzontale tondo di plastica, una mangiatoia lineare ed un abbeveratoio a tazza. Gli abbeveratoi erano identici, mentre nelle gabbie grandi le mangiatoie erano più basse (5 cm) rispetto alle altre (7 cm) ed il posatoio di plastica era posizionato a distanza doppia (20 cm) dalla mangiatoia, rispetto ai 10 cm delle gabbie piccole. Tutte le gabbie sono state disposte su mensole sovrapposte in uno stesso locale non riscaldato con illuminazione ed aerazione naturale per simulare le normali condizioni di stabulazione degli uccelli da richiamo.

A tutti i soggetti è stato somministrato giornalmente un mangime commerciale specifico per insettivori ed acqua a volontà.

A partire dal mese di marzo e per 13 mesi consecutivi mensilmente e nell'arco di 3 mattine successive, sempre alla stessa ora per evitare interferenze con i ritmi circadiani, sono state effettuate operazioni che prevedevano per ogni soggetto:

- pesatura mediante apposito dinamometro;
- rilevamento delle caratteristiche della livrea;

il controllo dello stato del piumaggio è stato effettuato in particolare per le penne remiganti e le timoniere e il loro grado di usura è stato valutato mediante l'attribuzione di un valore da 0 a 4, indicante la progressiva gravità della lesione. Più precisamente per le remiganti il punteggio indicava:

0 = normali

1 = usura delle primarie

2 = usura anche delle secondarie

3 = rottura distale del rachide delle primarie

4 = rottura distale del rachide anche delle secondarie.

Per le timoniere i valori corrispondevano a:

0 = normali

1 = usura apicale

2 = rottura distale del rachide

3 = rottura mediale del rachide

4 = rottura prossimale del rachide.

- controllo della presenza di ectoparassiti, acari plumicolici e mallofagi in particolare e di eventuali lesioni traumatiche agli arti e alla base del becco, causate da tentativi di fuga;

- prelievo di sangue dalla vena giugulare destra in quantità di 0,3 ml per l'esecuzione dei controlli ematologici ed ematochimici di cui si riferisce nella parte seconda di questo lavoro;

- all'atto del prelievo è stato eseguito sul vetro un striscio di sangue, lasciato asciugare all'aria per alcuni minuti e quindi fissato in metanolo. Gli strisci sono stati colorati con il metodo May-Grunwald Giemsa per l'esame emoparassitologico;

- prelievo di campioni di feci (minimo 1 g) per l'esame copromicroscopico, al fine di quantificare l'emissione di oocisti di coccidi e uova di elminti intestinali. Il controllo parassitologico è stato effettuato con la camera di McMaster utilizzando singoli campioni di feci diluite 1:15 in soluzione satura di NaCl.

L'analisi statistica è stata eseguita con programma Statistic pack (Statsoft Inc.). È stata impiegata l'analisi della varianza entro le gabbie ed entro le specie. Le correlazioni sono state valutate con test per ranghi di Spearman.

### 3. Risultati

#### 3.1. Peso

Il peso medio dei soggetti nei 13 mesi della prova è riportato nella fig. 1. Questo parametro ha mostrato andamenti differenti a seconda della specie: mentre Cesena e Merlo, nelle gabbie grandi hanno mantenuto un peso significativamente superiore ai conspecifici delle gabbie tradizionali, il Tordo bottaccio ed il Tordo sassello hanno mostrato una tendenza inversa, anche se le differenze in queste due ultime specie non sono statisticamente significative.

#### 3.2. Stato del piumaggio

Dal punto di vista morfologico, già a partire dai primi controlli, si sono evidenziate alterazioni della livrea sia tra le specie, sia tra i gruppi. In particolare si presentavano spezzate, talvolta addirittura alla base, le penne timoniere e molto meno integre erano le remiganti (Tab. 1). Statisticamente a questo proposito la dimensione della gabbia è risultata significativa solo in alcuni casi. Ad esempio, il Merlo ha subito una pressochè identica alterazione del piumaggio sia nelle gabbie grandi sia in quelle piccole; la Cesena, al contrario, ha manifestato una maggiore integrità delle remiganti quando alloggiata in gabbie grandi (differenze altamen-

te significative con  $P < 0,01$ ) rispetto alle gabbie piccole; analoga situazione, ma relativamente alle penne timoniere, si è presentata per il Tordo bottaccio ( $P < 0,01$ ). Il Tordo sassello è stato indubbiamente avvantaggiato quando a disposizione aveva una gabbia grande, poiché l'usura delle remiganti e delle timoniere in questa specie è risultata maggiore nelle gabbie piccole, rispettivamente con valori di  $P < 0,004$  e  $P < 0,001$ . Per meglio evidenziare le scadenti condizioni generali della livrea, il grado di usura delle penne è graficamente stato rappresentato in fig. 2 e 3. Come si può vedere, la rottura più o meno marcata del rachide sia delle remiganti sia delle timoniere era la norma in tutte le specie, con valori generalmente più elevati per le gabbie piccole. Lo stato del piumaggio è migliorato temporaneamente in settembre-ottobre per tutte le specie, dopo la muta estiva, tranne che per Tordo sassello.

### 3.3. Lesioni podali

Per quanto concerne altre lesioni macroscopicamente apprezzabili, a parte le piccole ferite alla fronte occasionalmente riscontrate dopo manipolazioni o spaventi che spingevano gli uccelli a tentare la fuga attraverso le sbarre, si segnala la presenza di lesioni podali (Tab. 2). Presenti in entrambi i gruppi con frequenza simile, queste lesioni sono state riscontrate nei vari controlli mensili per 47 volte nelle gabbie grandi e 44 in quelle piccole; consistevano per lo più in pododermatiti di lieve gravità che

tendevano alla guarigione spontanea. Tre soggetti hanno però costantemente accusato anche gonfiori articolari (articolazioni tarso-metatarso-falangee) e dolorabilità locale: si trattava o di soggetti più pesanti della media o privi dell'unghia del secondo dito oppure con posatoio irregolare. In ogni caso le lesioni risultavano di origine traumatica. Nel corso del periodo sperimentale lesioni podali di questo tipo sono state causa o concausa della morte di almeno 1 dei 4 soggetti deceduti: la forte dolorabilità articolare impediva un corretto stazionamento e la prensione del cibo, con inevitabile progressivo deperimento organico ed exitus.

### 3.4. Ectoparassiti

Nonostante lo stato del piumaggio nel periodo della sperimentazione sia andato via via peggiorando, soprattutto per quanto concerne le penne remiganti e le timoniere, sedi tipiche degli acari plumicoli, non raro è stato il reperimento di questi parassiti in tutte le specie di turdidi considerate (Tab. 3, Fig. 4).

L'infestazione è però sempre stata di grado medio o lieve durante tutto l'arco dell'anno con calo estivo marcato. Si è riscontrata con prevalenza maggiore nei soggetti delle gabbie piccole rispetto alle grandi (24,4% Vs 18,2%). Sovente da un mese all'altro si aveva persistenza degli acari sullo stesso soggetto, anche se Merlo e Cesena risultavano più spesso portatori rispetto a Tordo bottaccio ed a Tordo sassello. Sulla base delle caratteristiche morfologiche gli

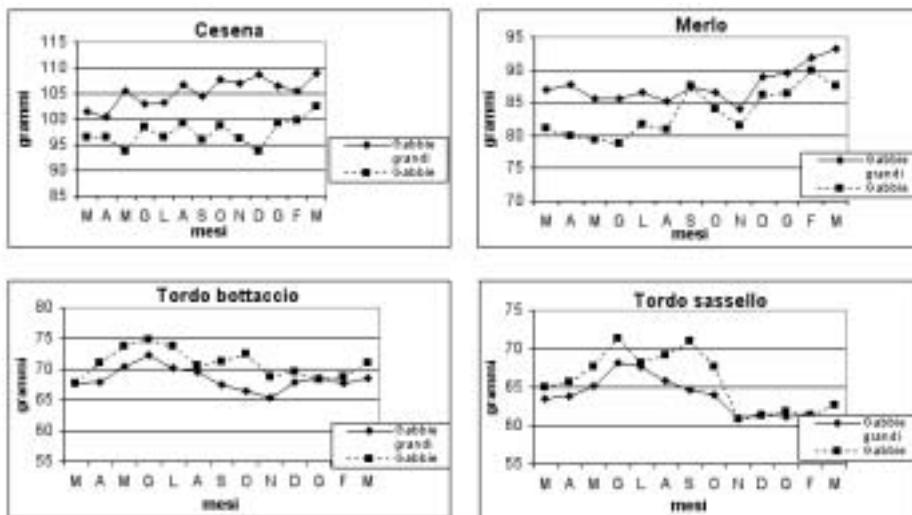


Fig. 1 – Variazioni del peso medio durante la sperimentazione

**Tab. 1** - Risultati delle 13 valutazioni mensili dello stato del piumaggio nelle 4 specie.

Specie	Penne	Gabbie	Punti					Totale		Media
			0	1	2	3	4	Controlli n°	Punti	
Cesena	Remiganti	grandi	7	6	1	22	29	65	190	2,92
		piccole	0	2	4	7	42	55	199	3,61 **
	Timoniere	grandi	3	11	4	46	1	65	161	2,48
		piccole	0	4	4	45	2	55	155	2,82
Merlo	Remiganti	grandi	9	13	3	11	29	65	168	2,58
		piccole	14	7	2	6	27	56	137	2,39
	Timoniere	grandi	4	16	1	39	5	65	155	2,38
		piccole	1	14	5	33	3	56	135	2,41
Tordo bottaccio	Remiganti	grandi	5	3	2	11	33	54	172	3,18
		piccole	10	7	1	10	37	65	187	2,88
	Timoniere	grandi	2	12	0	40	0	54	132	2,44
		piccole	1	4	5	51	4	65	183	2,81 **
Tordo sassello	Remiganti	grandi	10	2	0	9	37	58	177	3,05
		piccole	0	0	2	12	51	65	244	3,75 **
	Timoniere	grandi	5	8	1	44	0	58	142	2,45
		piccole	0	1	0	60	4	65	197	3,03 **

Legenda:

Remiganti: 0 = normali; 1 = usura delle primarie; 2 = usura anche delle secondarie; 3 = rottura del rachide delle primarie; 4 = rottura del rachide anche delle secondarie;

Timoniere: 0 = normali; 1 = usura apicale; 2 = rottura distale del rachide; 3 = rottura mediale del rachide; 4 = rottura prossimale del rachide.

\*\* : per ogni specie le differenze fra le gabbie corrispondono a  $P < 0,01$ .

acari plumicoli rinvenuti erano morfologicamente riconducibili al genere *Proctophylloides*. Anche per quanto riguarda i mallofagi (Fig.5) non è stato possibile giungere all'identificazione di specie, ma si è notata la prevalenza di generi della famiglia Menoponidae. Questi mostravano un grado di infestazione molto blando (1-5 insetti per soggetto) e raramente erano riscontrati nei controlli successivi sullo stesso soggetto. Se le gabbie di Merlo e Cesena risultavano contigue entrambe le specie erano parassitate; Tordo bottaccio e Tordo sassello si sono dimostrati meno infestati e ciò indipendentemente dalle dimensioni delle gabbie. In entrambi i tipi di gabbia mentre gli acari tendevano alla diminuzione durante la stagione della muta; i mallofagi sono rimasti pressochè costanti durante tutto l'arco dell'anno. Rarissimi i casi di biparassitismo, riscontrati solo nel Merlo e nella Cesena in 3 soggetti delle

gabbie tradizionali e in 2 delle gabbie grandi.

### 3.5. Endoparassiti

All'esame copromicroscopico sono stati reperiti coccidi, nematodi e cestodi; non sono mai state rinvenute uova di acantocefali e di trematodi (Tab. 4). In questa tabella si può anche notare la sovrapposizione dei vari parassiti riscontrati nei singoli animali alloggiati nelle diverse tipologie di gabbie. In tutte le Cesene e in 9 Merli su 10 il triparassitismo è stato normalmente riscontrato. Sempre in termini qualitativi i meno parassitati sono risultati i Tordi bottacci, con un solo soggetto dei 5 tenuti nelle gabbie piccole eliminatore di uova di cestodi. Invece i Tordi sasselli, per quanto concerne il triparassitismo, si collocano in posizione intermedia con 1 soggetto costantemente esente da coccidi, 1 da nematodi e 2 da cestodi. Per quanto concerne i coccidi, va precisato che

**Tab. 2** - Presenza di lesioni podali nei 13 controlli mensili.

Gabbie grandi																				
Mese	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	S	C	M	B	S	C	M	B	S	C	M	B	S	C	M	B	S	C	M	B
M																				
A																				
M										-		-								
G	-		-			-				-		†							-	
L		-		-	-					-			-			-			-	
A										-			†	-		-		-		
S	-	-				-			-	-				-		-		-		
O	-			-		-				-				-		-		-		
N	-					-				-				-						
D	-									-				-						
G						-				-				-						
F										-				-						
M										-				-						
Totale lesioni 47																				
Prevalenza 38,52																				
Gabbie piccole																				
Mese	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
	S	C	M	B	S	C	M	B	S	C	M	B	S	C	M	B	S	C	M	B
M				-																
A				-																
M				-																
G	-	-		-						-						-	-			
L	-	-		-						-	†			-	†					
A	-	-		-				-	-	-			-			-	-			
S	-	-		-						-						-				
O		-		-			-					-			-					
N				-				-		-			-							
D				-																
G				-																
F		-		-																
M				-																
Totale lesioni 44																				
Prevalenza 36,06																				

Legenda:

# C: Cesena; # M: Merlo; # B: Tordo bottaccio; # S: Tordo sassello. \_ = soggetto con lesioni; † = soggetto deceduto

Note: soggetto n° 10 = mediamente più pesante dei conspecifici; n° 14 = posatoio con irregolarità; n° 24 = assenza dell'unghia del 2° dito zampa dx

sono state riscontrate oocisti riferibili al genere *Isoospora* in tutte le 4 specie per molti mesi consecutivi e, specialmente per Cesena e Merlo, con persistenza dell'infezione fino al termine della prova (figura 6). Viene riportata la distinzione tra il numero di oocisti riscontrate negli uccelli tenuti nelle gabbie grandi rispetto a quelli delle gabbie piccole anche se nelle due situazioni l'andamento è stato molto simile e la differenza non è risultata statisticamente significativa, se non per il Tordo sassello che, nelle gabbie grandi, ha eliminato un numero maggiore di oocisti ( $P < 0,03$ ).

Anche il numero di uova di cestodi ritrovato nelle feci di Tordo bottaccio è significativamente maggiore per le gabbie grandi ( $P < 0,02$ ). Invece il numero di uova di nematodi ritrovato nelle feci è stato significativamente maggiore per Tordo bottaccio e Tordo sassello tenuti nelle gabbie piccole con valori di  $P < 0,04$  e di  $P < 0,006$  rispettivamente. Per Cesena e Merlo non vi è alcuna differenza significativa tra gabbie grandi e quelle piccole riguardo al numero di parassiti trovati nelle feci. Per meglio graficamente evidenziare se e quanto le dimensioni delle gabbie abbiano influito sulla persistenza delle parassitosi intestinali se ne riporta in figura 7 e 8 l'andamento, riassunto come medie calcolate sui riscontri effettuati nel corso di tutta la sperimentazione.

Come si può notare si tratta innanzitutto di infezioni/infestazioni sub-cliniche. Inoltre, nonostante le differenze tra le specie non sempre abbiano raggiunto la significatività statistica, i soli dati in comune riguardano i nematodi,

più presenti negli uccelli tenuti nelle gabbie piccole, e le oocisti che, viceversa, sono più numerose in quelli delle gabbie grandi. Nel corso dell'anno si è evidenziata una tendenza alla diminuzione dell'emissione dei parassiti. Oocisti, nematodi e cestodi erano però presenti in molti soggetti ancora al termine della sperimentazione.

Valutate con test per ranghi di Spearman, le correlazioni tra parassiti e gli altri parametri considerati hanno evidenziato comportamenti differenti nelle diverse specie. Nel Merlo la correlazione è negativa solo fra oocisti e cestodi ( $P < 0,03$ ), mentre è positiva fra oocisti e nematodi ( $P < 0,005$ ) e fra nematodi e cestodi ( $P < 0,03$ ). Tordo bottaccio e Tordo sassello non hanno presentato alcuna correlazione significativa tra i parametri esaminati.

In nessuna specie si è trovata correlazione significativa tra presenza di parassiti e peso.

### 3.6. Emoparassiti

Mediante la lettura degli strisci ematici è stato possibile evidenziare nel sangue periferico dei turdidi in sperimentazione la presenza di gametociti di *Leucocitozoon* spp. e *Haemoproteus* spp., nonché di microfilarie (Tab. 5). Non è stato valutato il grado di infestazione, comunque rivelatosi generalmente modesto, ma la presenza di soggetti parassitati.

La Cesena è la specie risultata meno colpita, sia in quanto a numero di animali positivi, sia in termini di persistenza degli emoparassiti, riscontrati solo nei primi due prelievi. Merlo e Tordo sassello apparivano ugualmente parassitati nelle

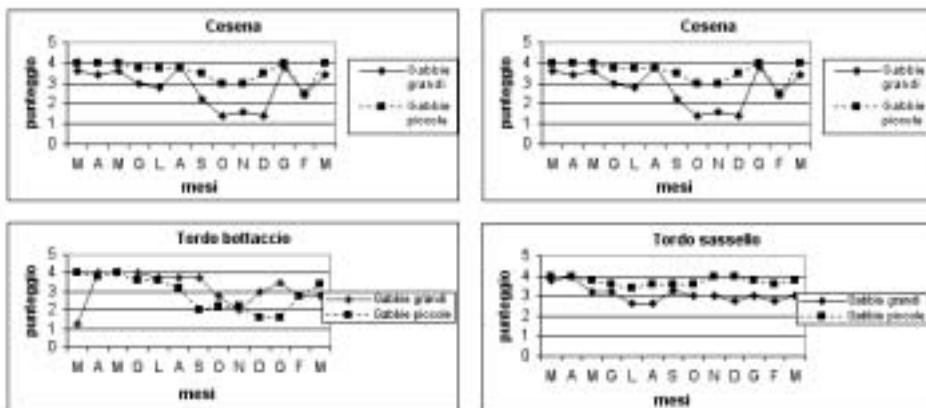


Fig. 2 – Usura delle penne remiganti durante la sperimentazione

Legenda: 0 = penne normali; 1 = usura delle primarie; 2 = usura anche delle secondarie; 3 = rottura distale del rachide delle primarie; 4 = rottura distale anche del rachide delle secondarie

gabbie grandi (soggetti n° 1-5) e nelle gabbie piccole (soggetti n° 6-10), mentre nel Tordo bottaccio è stata evidenziata una positività significativamente più elevata nei soggetti delle gabbie grandi. La presenza di *Haemoproteus* è stata piuttosto sporadica, mentre persistente era l'infezione da *Leucocytozoon* spp e la microfilariosi.

### 3.7. Mortalità

Nel corso della sperimentazione si è registrata una mortalità del 10% (4/40), che ha interessato ugualmente le specie ed i tipi di gabbia. In particolare sono morti un Tordo bottaccio ed un Tordo sassello nelle gabbie grandi e una Cesena ed un Merlo nelle gabbie piccole. Questi ultimi due soggetti sono deceduti in seguito a rottura della giugulare durante il prelievo ematico; il Tordo bottaccio si presentava in pessimo stato di nutrizione con gastro-enterorragia da digiuno, conseguente ad una persistente artro-sinovite fibrinosa tarso-metatarsofalangea; nel quarto soggetto venuto a morte non sono stati riscontrati reperti di rilievo.

## 4. Discussione

Per meglio inquadrare i risultati ottenuti, questi verranno discussi seguendo, per quanto possibile, l'ordine della presentazione nel capitolo precedente.

### 4.1. Peso

Il peso medio dei soggetti da noi utilizzati si è

sempre mantenuto entro i valori propri delle singole specie (Svensson 1975) e ciò conferma la buona qualità della miscela alimentare utilizzata e la cura con cui sono stati seguiti gli animali. Le Cesene e i Merli mantenuti nelle gabbie di dimensioni maggiori però hanno mostrato un peso significativamente superiore ai conspecifici delle gabbie piccole ( $P < 0,001$ ). Questa differenza era già evidente anche dal primo controllo e si è mantenuta tale per tutta la durata della prova (Fig. 1). Si era inizialmente pensato che sul diverso stato di nutrizione avessero influito le endo-ectoparassitosi, ma queste non sono risultate statisticamente significative in proposito. Va ricordato che in ogni caso si trattava di parassitosi subcliniche, tipiche dei passeriformi nati e vissuti allo stato libero, come da tempo e più volte documentato dalla letteratura specifica (Boughton 1933, Schwalbach 1960, Binder 1971, Mani *et al.* 1998).

E' difficile anche dare un'interpretazione delle variazioni di peso riscontrate in relazione all'andamento stagionale. Nelle nostre condizioni, contrariamente alla credenza comune tra gli allevatori, il caldo estivo non ha influito negativamente sull'assunzione di cibo anche nei turdidi che trascorrono l'estate a latitudini più settentrionali, come la Cesena e il Tordo sassello. All'approssimarsi del periodo migratorio autunnale (ottobre - novembre) si è invece notata una generale diminuzione di peso, indipendentemente dal tipo di gabbia, in tutte le

Tab. 3 - Acari plumicoli - N° soggetti parassitati ad ogni controllo mensile.

	Specie	Mesi												Controlli			
		M	A	M	G	L	A	S	O	N	D	G	F	M	N° totale.	Positivi	Preval.
Gabbie grandi	Cesena	4	3	5	2	0	0	0	0	0	2	3	3	2	65	24	36,9
	Merlo	4	1	3	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	65	15	23,1
	T. bottac.	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	55	1	1,8
	T.sassel.	1	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	57	4	7,0
Totale parziale		10	4	10	4	1	1	0	0	0	3	4	4	3	242	44	18,2
Gabbie piccole	Cesena	2	2	1	1	2	0	1	1	2	2	1	3	3	56	21	37,5
	Merlo	2	4	4	3	3	1	1	1	1	1	2	2	3	56	28	50
	T. bottac.	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	65	3	4,6
	T.sassel.	2	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	65	7	10,8
Totale parziale		6	7	5	5	6	1	2	2	4	4	5	6	6	242	59	24,3
Totale generale		16	11	15	9	7	2	2	2	4	7	9	10	9	484	103	21,3

specie, tranne che per la Cesena. Ciò può essere interpretabile come il risultato di una maggiore irrequietezza pre-migratoria finalizzata, in natura, alla necessità di aumentare l'allenamento muscolare per meglio affrontare l'imminente ed impegnativo trasferimento. Resta comunque difficile da spiegare la diminuzione ponderale registrata in settembre-ottobre, poiché è noto che per tutti i passeriformi migratori le riserve lipidiche in questo periodo sono molto elevate e, in casi estremi, possono addirittura rappresentare il 50% del peso corporeo (Jonsson, 1992). Se la situazione da noi riscontrata è conseguenza della detenzione in gabbia, bisogna dire che non la dimensione di questa, ma lo stato stesso di cattività ha negativamente influito sul peso autunnale.

#### 4.2. Stato del piumaggio

Indipendentemente dalla valutazione statistica, che in alcuni casi ha mostrato valori significativamente migliori per gli uccelli delle gabbie grandi, in generale la condizione della livrea è risultata visibilmente scadente. È comprensibile come questo dato ricorra sistematicamente nelle denunce per maltrattamento, di cui si è parlato abbondantemente a livello introduttivo, perché la rottura parziale o totale del rachide delle penne remiganti e timoniere conferisce agli uccelli un aspetto emaciato e sofferente, ancor più accentuato dai tentativi di fuga che questi mettono in atto all'avvicinarsi di persone estranee. Anche spaventi casuali possono provocare piccole ferite traumatiche fron-

tali, ma né queste né la rottura delle penne possono essere evitate negli uccelli selvatici tenuti in gabbia, perché l'istinto della fuga è insopprimibile, così come l'allargamento e lo sbattere delle ali per mantenere il tono dei muscoli pettorali. Perciò si è dimostrata insufficiente a questo proposito anche l'adozione di gabbie di dimensioni quasi doppie rispetto a quelle tradizionali.

Anche la distanza del posatoio dal pavimento della gabbia, nonché l'altezza della mangiatoia, dovrebbero essere superiori a 5 cm al fine di prevenire la rottura delle penne timoniere; non è improbabile infatti che il pessimo stato della coda riscontrato pure negli uccelli delle gabbie più grandi sia dipeso dallo sfregamento delle timoniere sul pavimento, anche quando questi stazionavano sul piolo o sulla mangiatoia.

#### 4.3. Ectoparassiti

In tutte le specie di turdidi che erano state catturate durante precedenti migrazioni autunnali si era riscontrata una notevole percentuale di soggetti ben parassitati (Riva *et al.*, 1996). Negli animali della nostra prova viceversa è apparso da subito evidente che il cattivo stato delle penne, remiganti in particolare, non favoriva la permanenza e lo sviluppo di grandi quantità di ectoparassiti. L'infestazione infatti è stata sempre di grado moderato o lieve durante tutto l'arco dell'anno, con rarissimi casi di biparassitismo (acari plumicoli + mallofagi) e non si è neppure verificato il noto aumento dei mallofagi durante la stagione preriproduttiva

**Tab. 4** - Numero di soggetti eliminatori di parassiti intestinali in almeno uno dei 13 controlli mensili consecutivi

Specie	Gabbie	Soggetti eliminatori di					
		O		C		N	
		N°	%	N°	%	N°	%
Cesena	G	5	100	5	100	5	100
	P	5	100	5	100	5	100
Merlo	G	5	100	5	100	5	100
	P	5	100	4	80	5	100
Tordo bottaccio	G	5	100	4	80	4	80
	P	4	80	1	20	5	100
Tordo sassello	G	5	100	5	100	4	80
	P	4	80	3	60	5	100

Legenda:

O = oocisti di *Isospora* spp; C = uova di cestodi; N = uova di nematodi; G = gabbie grandi; P = gabbie tradizionali

**Tab. 5** - Emoparassiti riscontrati nelle specie controllate nell'arco di 13 mesi

	Mesi												
	M	A	M	G	L	A	S	O	N	D	G	F	M
Cesena n° 1	L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cesena n° 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cesena n° 3	L	L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cesena n° 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cesena n° 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cesena n° 6	H	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cesena n° 7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cesena n° 8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cesena n° 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cesena n° 10	L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Merlo n° 1	LM	L	L	L	L	L	L	L	-	L	L	L	L
Merlo n° 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Merlo n° 3	M	L	L	L	L	L	-	-	-	-	-	-	L
Merlo n° 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Merlo n° 5	H	H	-	-	L	L	L	L	L	L	-	-	-
Merlo n° 6	-	L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Merlo n° 7	-	-	LH	LH	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Merlo n° 8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Merlo n° 9	-	-	-	L	L	L	L	L	-	-	L	L	L
Merlo n° 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T. bott. n° 1	LH	L	L	L	L	L	-	L	-	-	L	L	L
T. bott. n° 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T. bott. n° 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T. bott. n° 4	M	M	L	M	M	M	M	M	M	-	M	M	M
T. bott. n° 5	-	-	-	-	M	M	M	-	-	-	-	-	-
T. bott. n° 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T. bott. n° 7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T. bott. n° 8	-	-	M	M	M	M	M	-	-	-	-	-	-
T. bott. n° 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T. bott. n° 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T. sassel. n° 1	-	M	M	-	M	M	M	M	M	-	-	-	-
T. sassel. n° 2	-	-	-	-	L	-	-	-	-	-	-	-	-
T. sassel. n° 3	-	L	-	-	M	M	-	-	-	-	-	-	M
T. sassel. n° 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T. sassel. n° 5	-	-	L	-	M	M	-	-	-	-	-	-	M
T. sassel. n° 6	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
T. sassel. n° 7	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T. sassel. n° 8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T. sassel. n° 9	LHM	M	-	LM	LM	LM	-	-	-	-	-	-	M
T. sassel. n° 10	HL	-	-	-	M	LM	-	-	-	-	-	-	-

Legenda:

H = *Haemoproteus* spp; L = *Leucocytozoon* spp; M = microfilarie; Casella vuota = soggetto deceduto

descritto da Ash (1960) nei soggetti viventi a vita libera. E' però probabile che, più dell'usura, sia l'inevitabile imbrattamento fecale delle penne nei soggetti in cattività a contrastare le necessità biologiche degli ectoparassiti, che sui nostri uccelli non hanno trovato un pabulum favorevole alla loro crescita, neppure nei mesi estivi a loro propizi. Anche questo dato contrasta con la credenza, assai diffusa tra gli allevatori, che acariasi e pediculosi siano causa di notevoli disturbi per i soggetti in gabbia. Interessante è stata anche l'osservazione della (relativamente) stretta specie-specificità dei mallofagi che, nonostante la contiguità delle gabbie ospitanti uccelli diversi, non si sono diffusi; solo tra Cesena e Merlo si sono verificati pochi casi di probabile infestazione reciproca.

#### 4.4. Endoparassiti

Le infezioni/infestazioni riscontrate in questa prova siano state a carattere sub-clinico, come tipicamente si riscontra in soggetti selvatici (Mani *et al.*, 1998). Ovviamente il grado di infezione/infestazione iniziale di ogni singolo soggetto ha influenzato l'emissione successiva di oocisti od uova di elminti intestinali. I dati comuni indicano una maggiore presenza di nematodi nelle gabbie piccole e le oocisti, viceversa, più numerose nelle gabbie grandi. Ciò potrebbe essere casuale ma potrebbe anche essere conseguenza della maggiore facilità di ingestione di larve infestanti, per i nematodi a ciclo diretto, da parte degli uccelli delle gabbie piccole perché più imbrattate di feci; viceversa per la coccidiosi subclinica, più rilevante nelle

specie alloggiate in gabbie grandi, si dovrebbe pensare che il battito delle ali permesso dalla dimensione delle gabbie favorisca la dispersione e la ingestione delle oocisti sporulate presenti nelle feci disseccate sottostanti. Mentre queste ipotesi sembrano poco probabili, un dato certo e circostanziato è invece rappresentato dalla persistenza dell'infestazione da cestodi, le cui uova, pur in mancanza di ospiti intermedi, sono state costantemente rinvenute in tutte le 4 specie anche molti mesi (fino a 13) dopo l'ingabbiamento degli animali. A quanto ci consta questa costituisce forse la prima segnalazione della lunga sopravvivenza negli uccelli di questi plateminti.

Circa la non interferenza degli endoparassiti sul peso degli animali in prova si è già detto in precedenza. Qui basterà ricordare che sicuramente ciò è dipeso dall'età ormai adulta degli uccelli, dalla relativamente bassa carica parassitaria e soprattutto dall'assenza di agenti infestanti ad alta patogenicità. Ad esempio, durante i nostri controlli non sono mai state rinvenute uova di acantocefali, che, con il genere *Prosthynchus*, sono descritti come causa di grave enterite negli passeriformi (Euzèby, 1963; Everett, 1965; Ruff & Norton, 1997; Mani *et al.*, 1998). Viceversa coccidi, cestodi e nematodi sono sempre stati considerati di scarsa importanza per i soggetti adulti (Petraik, 1969).

#### 4.5. Emoparassiti

Per quanto non sia stato specificamente valutato, il grado di infezione/infestazione da emoparassiti si è rivelato in genere modesto, mentre

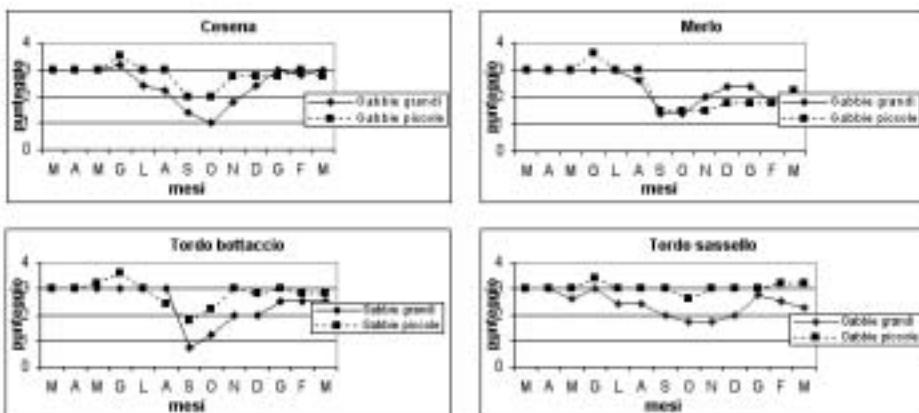


Fig. 3 – Usura delle penne timoniere durante la sperimentazione

Legenda: 0 = penne normali; 1 = usura apicale; 2 = rottura distale del rachide; 3 = rottura mediale del rachide; 4 = rottura prossimale del rachide

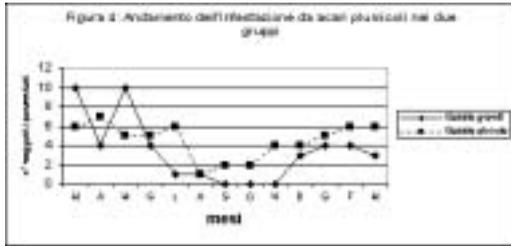


Fig. 4 – Andamento dell'infestazione da acari plumicoli nei due gruppi

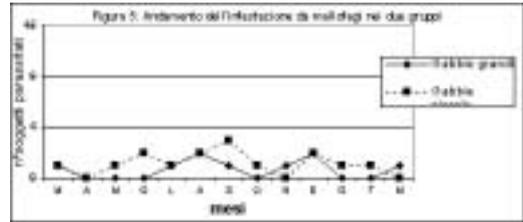


Fig. 5 – Andamento dell'infestazione da mallofagi nei due gruppi

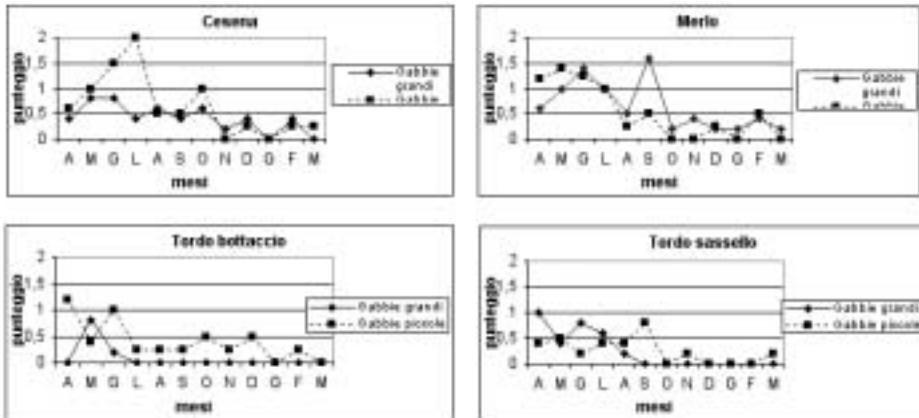


Fig. 6 – Andamento dell'emissione di uova di nematodi/g feci nel corso della sperimentazione  
 Legenda: 0 = assenti; 1 = < 500 uova/g feci; 2 = 500-1000 uova/g feci; 3 = 1000-3000 uova/g feci; 4 = > 3000 uova g/feci

la persistenza degli stessi è stata notevole anche a livello periferico. La percentuale di soggetti colpiti nell'uno o nell'altro gruppo di gabbie è stata talvolta significativamente alta, come nel caso del Tordo bottaccio nelle gabbie grandi ma ciò è dipeso solo dalla distribuzione a caso degli animali dopo la cattura.

Per quanto riguarda invece l'importanza di questi parassiti e la loro influenza sui parametri considerati, si è propensi a non enfatizzarle, tenuto conto di quanto riportato in letteratura (Peirce, 1981; Bennet, 1987) e di quanto evidenziato in precedenti nostre ricerche sull'alta percentuale di turdidi riscontrati infetti durante le migrazioni primaverili ed autunnali (Gallazzi et al., 1994; 1996). Dalla zona di provenienza, e quindi dalla presenza di insetti vettori, dipende ovviamente anche la prevalenza degli emoparassiti; pure dalle nostre prove viene la conferma di quanto persistenti siano queste infezioni (Petraik, 1969).

#### 4.6. Mortalità

Il dato finale relativo alla mortalità, che nel corso della nostra prova è stato del 10% (4 soggetti morti su 40), rischia di essere fuorviante. Se infatti i soggetti non fossero stati mensilmente sottoposti a manipolazioni così stressanti e pericolose come il prelievo ematico dalla giugulare, probabilmente sarebbero sopravvissuti in percentuale ben maggiore, indipendentemente dalla cattività e dalla dimensione delle gabbie. E' però qui importante sottolineare la perdita di un Tordo sassello per pododermatite e, sempre in un soggetto della stessa specie, la presenza di gravi lesioni podali a causa di un posatoio risultato scabro e irregolare. Oltre alla forma, grande attenzione deve essere posta dalla posizione e distanza del posatoio dalla mangiatoia: maggiore è la distanza tra questo e la mangiatoia, più lungo sarà il balzo e maggiori i traumatismi, specialmente nei soggetti irrequieti e pesanti. Dopo pochi mesi in tutte le specie sono comparse soluzioni di continuo a

livello della cute plantare che talvolta non sono più guarite spontaneamente. Per questo si ritiene molto importante che tra le caratteristiche delle gabbie per la detenzione di uccelli da richiamo sia specificato che il posatoio debba essere in posizione orizzontale, con sezione tonda e con diametro non inferiore a 8 mm, come ben indicato in una nota dell'Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica in risposta a specifiche richieste del Ministero delle Risorse Agricole, Alimentari e Forestali (Spagnesi, dati non pubblicati).

## 5. Conclusioni

Il controllo prolungato per più di un intero anno dei parametri da noi considerati ci ha permesso di trarre alcune utili indicazioni su quanto la cattività influenzi lo stato morfologico e sanitario degli uccelli da richiamo, a seconda del tipo di gabbia utilizzato per la detenzione.

Per quanto concerne il peso, si è mediamente riscontrato un aumento proporzionale alle dimensioni delle gabbie per Cesena e Merlo, cioè per le specie più grandi. Poiché altrettanto non si è verificato nel Tordo bottaccio e nel Tordo sassello, specie di più ridotte dimensioni ma anche più irrequiete, si deve supporre che la maggiore dimensione della gabbia per queste due specie abbia favorito un più accentuato esercizio muscolare con conseguente maggiore perdita energetica a parità di ingestione di alimento. A proposito di quest'ultimo, va sottolineato che il mangime del commercio da noi utilizzato è risultato ottimo sotto tutti i punti di vista. Nessun caso di anomalità del piumaggio è mai stato causato da pica o carenze vitaminiche

co-oligoelementari, così frequenti negli uccelli da gabbia alimentati con diete casalinghe o non adeguatamente integrate (Lafeber, 1987; Kontio-Jalanka, 1988). Il (mediamente) cattivo stato della livrea che tutte le specie hanno presentato durante la prova è dipeso, come più volte ribadito, dallo stato di cattività piuttosto che dalle dimensioni della gabbia. Gli uccelli nati in libertà, diversamente da quelli allevati ed imprintati con l'uomo, mal sopportano la successiva clausura e necessitano di lunghissimi periodi di tempo per adattarsi alla gabbia ed alla presenza umana. Perciò sarà inevitabile trovare in non buono stato di impiumaggio tutti gli uccelli da richiamo finché per questo scopo saranno ingabbiati soggetti di recente cattura.

Per tutto quello che concerne i controlli parassitologici da noi effettuati nel corso della prova, si può dire che sono stati evidenziati aspetti già noti negli uccelli selvatici, come la presenza di un poliparassitismo sub-clinico abbastanza vario (ecto-endo-emoparassiti) e diffuso (più o meno presente in tutte le specie), ma tutto sommato ben sopportato dagli animali, ed altri poco conosciuti, come la sopravvivenza per oltre un anno nell'ospite definitivo di alcuni cestodi intestinali.

Ai fini della determinazione del grado di benessere o meno goduto dai soggetti tenuti in gabbia, indipendentemente dalle dimensioni a noi pare infine necessario il controllo anche del tipo di posatoio e di mangiatoia. Dall'altezza e dalla distanza di quest'ultima rispetto al pavimento ed al piolo infatti può dipendere la rottura delle penne timoniere e soprattutto la formazione di piccole soluzioni di continuo a

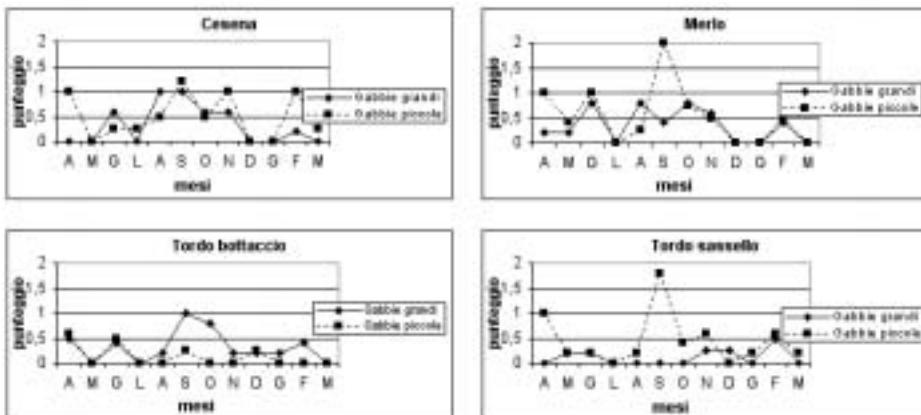


Fig. 7 – Andamento dell'emissione di uova di cestodi/g feci nel corso della sperimentazione

Legenda: 0 = assenti; 1 = < 500 uova/g feci; 2 = 500-1000 uova/g feci; 3 = 1000-3000 uova/g feci; 4 = > 3000 uova/g feci

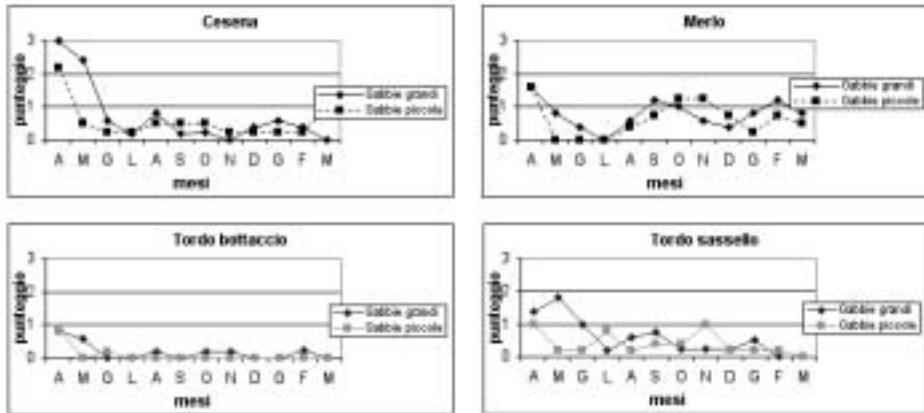


Fig. 8 – Andamento dell'emissione di oocisti/g feci nel corso della sperimentazione

Legenda: 0 = assenti; 1 = < 5000 oocisti/g feci; 2 = 5000-10000 oocisti/g feci; 3 = 10000-30000 oocisti/g feci, 4 = > 30000 oocisti/g feci

livello plantare che, per infezione batterica secondaria, esitano in gravi artrosinoviti e possono portare a morte i colpiti. Da tutti i dati da noi raccolti non sembra siano emersi risultati tali per cui si possa definire migliore un tipo di gabbia rispetto ad un'altra, compresa quella dalle dimensioni indicate nelle recenti delibere delle Regioni Lombardia ed Emilia Romagna. Entrambi i tipi di gabbie saggiate hanno presentato vantaggi ed inconvenienti a seconda delle specie ospitate ed in particolare non sono risultate idonee a salvaguardare l'integrità della livrea, che è l'aspetto di maggiore impatto emotivo relativamente alla questione "benessere". Fortunatamente questo è anche un aspetto che non comporta sofferenze agli uccelli perché, come sottolineato dalla citata nota di Spagnesi (non pubblicato), "le penne originano come formazioni cornee da un ispessimento del derma, collegato e nutrito da una papilla dermica. Quando la penna si è diversificata nelle sue componenti ed ha terminato il suo sviluppo, la papilla dermica si ritrae lasciandola devitalizzata, priva cioè di terminazioni nervose".

## 6. Ringraziamenti

Per la cortese collaborazione nel governo degli animali in sperimentazione e per la umana simpatia si ringrazia in modo particolare il sig. Aldo Reguzzoni. Per la cortese collaborazione nell'elaborazione statistica un grazie al dott. Enrico Zaffaroni.

## Bibliografia

ASH J. S. (1960) - A study of the Mallophaga of birds with particular reference to their biology and ecology. *Ibis* 102:93-110.

- BENNETT G.F. (1987) - *Haematozoa*. Elisha W. Burr. Iowa State University Press, Iowa.120-128.
- BINDER N. (1971) - Contribution to the morphology, invasion dynamics and development of the helminths of the blackbird (*Turdus merula* L.). *Zoologische Beitrage*, 17:83-150.
- BOUGHTON D.C. (1933) - Diurnal gametic periodicity in avian *Isospora*. *Am. J. Hyg.*, 18:161-183.
- EVERETT E.W. (1965) - Nematodes and Acantocephalus of poultry. In Bielster H.E., Schwarte L.H. (eds.) *Diseases of Poultry*, 5th ed., Ames, Iowa State University Press, 1000-1200.
- EUZÉBY J. (1963) - *Les maladies vermineuses des animaux domestiques et leurs incidences sur la pathologie humaine*, Vigot Frères Ed.
- GALLAZZI D., RIPAMONTI G., PECCATI C. & MANDELLI G. (1994) - Emoparassitosi in alcune specie di passeriformi europei. *Atti XIII Convegno Naz. APIV*, Volterra, 53-64
- GALLAZZI D., PECCATI C., GRANATA R., GRILLI G., VIGORITA V., SACCHI L., SIRTONI G. & MANDELLI G. (1996) - Emoparassitosi riscontrate in Italia in uccelli migratori durante il passo primaverile ed autunnale. *Supp. Ric. Biol. Selvaggina*, 24:189-198
- JONSSON L. (1992) - *Birds of Europe*. A & C Black ed., London.
- KONTIO-JALANKA K. (1988) - Feathering disorders in cage birds. Part. 1 Basic anatomy and influence of nutrition and environment. *Suomen Elainlaakarilehti*, 94:7-8, 348-351
- LAFEBER T. J. (1987) - *Feather disorders of common caged birds*. *Current veterinary therapy. VI Small animal practice*. Saunders W.B. ed., Philadelphia, USA, 675-681
- MANI P., ROSSI G., PERRUCCI S. & BERTINI S. (1998) - Mortalità di Merli (*Turdus merula*) in Toscana. *Selezione Veterinaria*, 39 (8-9):749-753.
- PEIRCE M.A. (1981) - Distribution and host-parasite check-list of Haematozoa of birds in Western Europe.

- Journal of Natural History*, 15:419-458.
- PETRAK M. L. (1969) - Diseases of cage and aviary birds. Lea & Febiger ed., Philadelphia, USA,
- RIVA R., GALLAZZI D., MAGNANI Z., OTTOBONI F. & MANDELLI G. (1996) - Reperimento di ectoparassiti su uccelli selvatici catturati in Lombardia. *Zootecnica International*, 6-7(supp.):142-151.
- RUFF M.D., NORTON R.A. (1997) - Nematodes and Acanthocephalans. In: Calnek B.W. (Ed.), *Disease of poultry*, 10th Edition. Iowa States Univ. Press, Ames, Iowa, 815-850.
- SCHWALBACH G. (1960) - Die coccidiose der Singvogel I. Der Ausscheidungsrythmus der Isospora-Oocysten beim haussperling (*Passer domesticus*). *Zbl. Bakt.*, 178:263-276.
- SVENSSON L. (1975) - *Identification Guide to European Passerines*. 2. Aufl. Stockholm



# VALUTAZIONE DELLO STATO SANITARIO DI TURDIDI DA RICHIAMO IN GABBIE DI DIMENSIONI TRADIZIONALI O MAGGIORI. PARTE II: PARAMETRI EMATOLOGICI ED EMATOCHIMICI

Sartorelli P., Zaffaroni E., Bellicini E.

Istituto di Patologia Generale Veterinaria. Università degli Studi, Via Celoria 10 - 20133 Milano

**Riassunto** - In quattro specie di uccelli del genere *Turdus* (Merlo, Cesena, Tordo bottaccio e Tordo sassello), sono stati valutati, con cadenza mensile nel corso di un anno, parametri ematologici ed ematochimici indicatori di stress e/o di possibili alterazioni a carico del metabolismo proteico e glucidico, nonché enzimi spia di eventuali lesioni muscolari (GR, PCV, GB, formula leucocitaria, proteine totali, acido urico, glicemia, CK e AST). Differenze significative tra i soggetti tenuti in gabbie di dimensioni differenti sono emerse, tra i parametri ematologici, per i granulociti eterofili ed il rapporto eterofili-linfociti (Et/L) che hanno mostrato valori più elevati nei soggetti tenuti nelle gabbie di dimensioni maggiori e, tra i parametri ematochimici per le attività enzimatiche (AST e CK) che sono risultate più elevate nei soggetti delle gabbie piccole. La Cesena è la specie che ha presentato le variazioni maggiori. I valori più elevati, nelle gabbie grandi, degli eterofili e del rapporto Et/L, tipico quest'ultimo di una condizione di stress anche acuto, potrebbero in parte essere imputabili allo stress connesso con le operazioni necessarie per il prelievo di sangue, che è risultato in effetti più difficoltoso per i soggetti in gabbia grande. Nel corso del periodo sperimentale questi parametri hanno comunque mostrato una tendenza alla diminuzione, a testimonianza dell'adattamento degli animali alle manipolazioni e alla condizione di cattività. I valori elevati di attività enzimatiche muscolari nei soggetti delle gabbie piccole, più evidenti per Cesena e Merlo, sembrerebbero invece indicativi di uno scarso trofismo muscolare, legato alla minore possibilità di movimento. Le alterazioni muscolari sono anch'esse probabilmente evidenziate dalle operazioni di cattura. Nel Tordo bottaccio e nel Tordo sassello non si osservano differenze tra i soggetti dei due tipi di gabbie. Sembra quindi di poter concludere che, almeno per Cesena e Merlo, le due specie di dimensioni maggiori, sia preferibile la permanenza in gabbie che consentano una libertà di movimento superiore a quelle tradizionali. Nel corso del periodo sperimentale sono inoltre emerse, accanto a differenze quantitative nei parametri esaminati, che rappresentano verosimilmente differenze di specie, anche variazioni che potrebbero essere imputabili a particolari condizioni ambientali (temperature elevate) o momenti fisiologici (periodo migratorio).

**Abstract** - Evaluation of health conditions of decoy-birds (*Turdus* spp.) kept in cages of two different dimensions. Part II: haematological and haematochemical parameters. Haematological and haematochemical examinations were monthly carried out for one year on birds of genus *Turdus* (Blackbird, Fieldfare, Song Trush, Redwing). The birds, 10 for each species, were equally divided into cages of two different dimensions (29,5 x 22 x 23 cm ; 43 x 28 x 28 cm). Parameters considered were markers of stress and/or of glucose and protein metabolism (RBC, PCV, WBC, leukogram, glucose, total protein, uric acid). Moreover, enzyme activities (CK, AST) were measured as markers of muscle lesions. Heterophil granulocytes and heterophil/lymphocyte ratio were significantly higher in birds kept in larger cages, especially in Fieldfare. This was probably due to acute stress experimented when birds were captured and restrained for blood drawing, because capture was more difficult for birds in larger cages. Heterophil granulocytes and heterophil/lymphocyte ratio decreased throughout the experimental period, suggesting that animals became progressively used to handling and caging. Plasma enzyme activities were higher in birds kept in small cages, particularly in Fieldfare and Blackbird. Muscle trophism was probably reduced because of the scarce possibility to move, and more enzymes could have been released into the bloodstream during capture procedures. No differences were observed for the Song Trush and the Redwing. In conclusion, it appears that, for Fieldfare and Blackbird, which are the biggest among these species, a larger cage than that commonly used would be preferable. Significant quantitative differences for most of the parameters were recorded among the four species of *Turdus* and are likely genetically determined. Furthermore, changes probably related to patho-physiological conditions (high ambient temperature, migratory period) were observed during the year.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 59 - 67

## 1. Introduzione

Per valutare in modo più approfondito se la detenzione in gabbie di dimensioni tali da consentire anche alle specie più grosse l'apertura delle ali fosse preferibile a quella in gabbie standard, sugli stessi soggetti, appartenenti a 4

specie del genere *Turdus*, Merlo (*Turdus merula*), Cesena (*Turdus pilaris*), Tordo bottaccio (*Turdus philomelos*), Tordo sassello (*Turdus iliacus*), di cui si è trattato nella parte I di questo lavoro (Gallazzi *et al.*, 2004), sono stati valutati con cadenza mensile, nel corso di un

anno, parametri ematologici ed ematochimici che fornissero indicazioni sullo stato sanitario e su eventuali situazioni di stress, o comunque di scarso benessere, in relazione al diverso tipo di gabbia. A tale scopo sono stati eseguiti l'esame emocromocitometrico, con valutazione del rapporto eterofili/linfociti (Et/L), considerato negli uccelli un marker di stress (Mc Farlane *et al.*, 1989), parametri indicatori del metabolismo glucidico (glucosio), proteico (proteine, acido urico), nonché enzimi marker di danno muscolare (CK, AST), per evidenziare eventuali situazioni patologiche riconducibili alla permanenza in spazio ristretto.

Le specie utilizzate differiscono per dimensioni, socializzazione, attitudine migratoria ed è quindi possibile che esse possano risentire in maniera differente dello stato di cattività; in sede di analisi statistica si è pertanto saggiata anche l'interazione specie-gabbia.

Dal momento inoltre che per queste specie mancano in letteratura informazioni sui valori ematologici ed ematochimici basali, a cui fare riferimento per una corretta interpretazione delle eventuali situazioni patologiche, scopo di questo lavoro è stato anche quello di raccogliere, per quanto possibile, dati relativi ai range "fisiologici" dei diversi parametri esaminati. L'indagine è stata protratta per un intero anno in quanto è verosimile che si verificano variazioni stagionali legate al ciclo riproduttivo e/o al periodo migratorio.

## 2. Materiali e metodi

Sono stati esaminati 10 soggetti di ciascuna specie, di cui 5 in gabbie di dimensioni tradizionali

(29,5 x 22 x 23 cm – L x l x h) e 5 in gabbie di dimensioni tali da consentire l'apertura delle ali anche alla Cesena (43 x 28 x 28 cm), la specie di maggiori dimensioni tra quelle studiate.

Per quanto attiene alle modalità di cattura, alla stabulazione, all'alimentazione e alla disposizione delle gabbie nel corso della sperimentazione si rimanda alla parte prima di questo lavoro.

Dal marzo 1996 al marzo 1997 sono stati eseguiti ogni mese prelievi di sangue, nell'arco di tre mattine successive, sempre alla stessa ora per evitare interferenze con i ritmi circadiani; la sequenza dei prelievi è stata randomizzata, registrando comunque per ogni soggetto il numero d'ordine del prelievo.

Da ciascun soggetto il sangue è stato prelevato dalla vena giugulare destra in quantità di 0,3 ml, immediatamente miscelato a 30 ml di una soluzione anticoagulante (EDTA).

All'atto del prelievo è stato eseguito uno striscio di sangue, successivamente colorato con May-Grünwald Giemsa per il calcolo della formula leucocitaria.

I campioni di sangue sono stati portati in Istituto in borsa termica nel tempo massimo di 4 ore dal prelievo. Appena giunti, i campioni sono stati sottoposti ai seguenti esami:

- valutazione del valore ematocrito, mediante capillare centrifugato a 12000 giri/minuto per 15 minuti;

- conteggio dei globuli rossi e bianchi in camera di Bürker; dopo diluizione in una pipetta contaglobuli in rapporto 1:200 con una soluzione specifica per uccelli (Natt & Herrick, 1952).

Il sangue rimanente è stato centrifugato a 1500 giri/minuto per 10 minuti e il plasma congelato

**Tab. 1** - Valori medi  $\pm$  deviazione standard dei parametri ematologici nelle diverse specie.

SPECIE	PCV %	G.R 103/ml	G.B. 103/ml	Linfociti %	Monociti %	Eterofili %	Eosinofili %	Basofili %
Cesena	49,47 $\pm 5,09$	3405 $\pm 2075$	36,62 $\pm 29,08$	71,54 $\pm 29,08$	7,56 $\pm 5,49$	12,20 $\pm 14,51$	8,24 $\pm 5,59$	2,22 $\pm 9,89$
Merlo	49,60 $\pm 5,17$	3197 $\pm 594$	34,21 $\pm 17,27$	82,34 $\pm 11,89$	4,75 $\pm 3,56$	6,43 $\pm 7,85$	4,96 $\pm 3,48$	0,84 $\pm 1,89$
Tordo bottaccio	50,64 $\pm 4,66$	3194 $\pm 618$	31,46 $\pm 13,41$	73,21 $\pm 12,22$	8,30 $\pm 5,42$	6,74 $\pm 7,57$	10,22 $\pm 6,9$	1,98 $\pm 3,72$
Tordo sassello	48,77 $\pm 5,73$	3127 $\pm 517$	24,72 $\pm 9,05$	78,00 $\pm 11,64$	8,63 $\pm 6,93$	4,64 $\pm 6,08$	7,61 $\pm 10,31$	2,69 $\pm 4,09$
	*	n.s.	***	***	***	**	***	**

Legenda: \* =  $P < 0,05$ ; \*\* =  $P < 0,01$ ; \*\*\* =  $P < 0,001$

fino al momento delle analisi, effettuate entro il termine massimo di 60 giorni. Il tempo intercorso tra prelievo e congelamento è risultato omogeneo per tutti i prelievi. Sono stati eseguiti con analizzatore automatico Abbott VP i seguenti esami:

- glicemia, con metodo enzimatico spettrofotometrico all'esokinasi (Boehringer-Mannheim)
- acido urico, con metodo enzimatico colorimetrico all'uricasi (Boehringer-Mannheim)
- proteine totali, con metodo colorimetrico al biuretto (Abbott)
- AST, con metodo spettrofotometrico in accordo con IFCC (Boehringer-Mannheim)
- CK con metodo spettrofotometrico CR NAC attivato (Boehringer-Mannheim)

Analisi Statistica: l'analisi statistica è stata eseguita con il programma Statistica 5.1 (Statsoft Inc). È stata impiegata l'analisi della varianza utilizzando come criterio di classificazione la dimensione delle gabbie e la specie di appartenenza. Per i parametri che non presentavano una distribuzione normale si è effettuata la trasformazione logaritmica dei dati. Le correlazioni sono state valutate con test per ranghi di Spearman.

### 3. Risultati

Nel corso dell'intero periodo sperimentale si è registrata, come già esposto nella parte prima, una mortalità del 10% (4/40), che ha interessato ugualmente le specie ed i tipi di gabbie, e che in tre casi è stata causata da incidente nel corso delle operazioni di prelievo.

Per quanto riguarda i valori relativi ai parametri ematologici ed ematochimici di seguito riportati, va ricordato che l'impiego di anticoagulante liquido ha comportato una diluizione dei campioni di circa il 10%.

#### 3.1. Parametri ematologici

I risultati relativi ai parametri ematologici sono riportati in Tab. 1.

Tra le diverse specie sono emerse differenze significative tra i valori medi di tutti i parametri considerati, escluso il numero di eritrociti. In particolare il valore ematocrito più basso si registra nel Tordo sassello, quello più elevato nel Tordo bottaccio; il numero di leucociti/mm<sup>3</sup> risulta inferiore nel Tordo sassello rispetto a tutte le altre specie. I linfociti sono più numerosi nel Merlo, gli eterofili nella Cesena, gli eosinofili nel Tordo bottaccio e nella Cesena. I monociti ed i basofili sono invece meno rappresentati nel Merlo.

Tra i soggetti delle gabbie grandi e quelli delle gabbie piccole è stata evidenziata una differen-

za significativa per gli eterofili che, sia come rappresentanza percentuale sia come valori assoluti, risultano più numerosi nelle gabbie grandi. Identico comportamento mostra il rapporto eterofili/linfociti. (Et/L) (Fig. 1).

Nel corso dell'anno non si evidenziano variazioni relative ai parametri ematologici, se si eccettua una tendenza alla diminuzione del numero degli eterofili e del rapporto eterofili/linfociti, in particolare nella Cesena (Fig. 2).

#### 3.2. Parametri ematochimici

I risultati relativi ai parametri ematochimici sono riportati in Tab. 2.

Anche i parametri ematochimici mostrano significative differenze di specie: sia la AST che la CK plasmatiche sono più elevate nel Merlo, sovrapponibili in Cesena e Tordo bottaccio, più basse nel Tordo sassello. La concentrazione delle proteine plasmatiche è superiore nel Merlo rispetto a tutte le altre specie; l'acido urico è più elevato nel Tordo bottaccio e più basso nel Tordo sassello, al contrario della glicemia che è più elevata in quest'ultimo.

Sono state riscontrate differenze significative tra i soggetti delle gabbie grandi e quelli delle gabbie piccole per AST, CK e proteine totali, che presentano valori medi più elevati nelle gabbie piccole. Tuttavia le quattro specie considerate non si comportano in modo univoco, come dimostrato dalla interazione significativa tra specie e gabbia. Per quanto riguarda le attività di CK e AST (Fig. 3), la Cesena mostra gli incrementi maggiori, seguita dal Merlo. Nel Tordo bottaccio e nel Tordo sassello le variazioni non risultano significative.

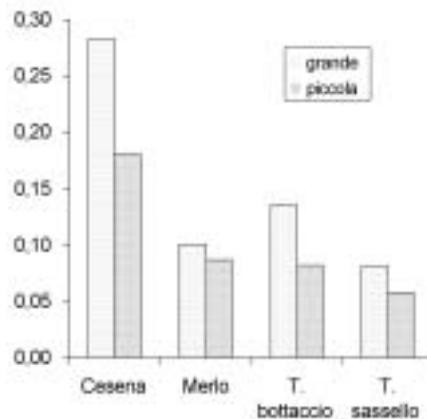


Fig. 1 – Valori medi del rapporto Eterofili/Linfociti nelle diverse specie in relazione al tipo di gabbia.

Le proteine totali sono più elevate in particolare nei Tordi bottacci delle gabbie piccole, tuttavia questa differenza è presente già al primo prelievo e si mantiene inalterata nel tempo; analogo comportamento è stato osservato per l'acido urico, più elevato nei Merli in gabbia grande e più basso nei Tordi bottacci in gabbia piccola. Trattandosi, in ogni caso, di valori iniziali entro i "range" fisiologici per gli uccelli, è verosimile che si tratti di differenze individuali. Nel corso dell'anno le attività enzimatiche mostrano in tutte le specie aumenti sensibili nel periodo primaverile e, con eccezione del Merlo, in quella autunnale (Fig. 4), con livelli minori e più omogenei nei mesi estivi.

La protidemia mostra saltuarie variazioni nel corso dell'anno, mentre l'acido urico tende ad aumentare, in particolare nel Tordo bottaccio. La glicemia non subisce variazioni stagionali significative, anche se va sottolineato che in tutte le specie i valori medi più elevati sono stati registrati al primo prelievo.

Per quanto riguarda infine l'eventuale influenza sui parametri considerati dell'ordine in cui sono stati eseguiti i prelievi, si sono ottenuti risultati differenti a seconda della specie (Tab. 3): in particolare, nella Cesena e nel Merlo vi è una correlazione positiva con l'ordine di prelievo per CK e AST. Nel Merlo e nel Tordo sassello l'ordine di prelievo influisce positivamente sulla glicemia, mentre nel Tordo bottaccio nessun parametro ne risulta influenzato.

#### 4. Discussione

Una valutazione obbiettiva della condizione di benessere di un animale è molto difficile da

raggiungere, dal momento che i parametri di cui disponiamo forniscono solo indicazioni parziali e a volte addirittura contraddittorie. Gli uccelli tenuti in gabbia si trovano, ad esempio, in una condizione che si discosta molto da quella naturale: subiscono una limitazione dei movimenti, sono impossibilitati a riprodursi e ad esibire comportamenti naturali quali quelli migratori, e sono quindi intuitivamente in una situazione di scarso benessere; tuttavia, se si prende come indicatore di benessere la longevità, essa è sicuramente maggiore: i Tordi da richiamo raggiungono i 10 anni di vita, mentre in natura non superano i 5, in base ad esperienze di ricattura. Una mortalità del 10% come quella da noi riscontrata, per di più causata dalle manipolazioni cui gli animali sono stati sottoposti, è di gran lunga inferiore a quella naturale. Anche lo stato di nutrizione è spesso migliore, per la maggior disponibilità di cibo.

Per la valutazione dello stato di benessere è inoltre necessaria una conoscenza approfondita delle necessità biologiche della specie prese in esame, che spesso manca, soprattutto per gli animali selvatici. L'impiego di parametri quali quelli ematici presuppone anche la disponibilità di valori di riferimento ottenuti in soggetti in condizioni "basali", il che è praticamente impossibile nel caso di animali a vita libera. Il prelievo di sangue comporta, infatti, la vicinanza dell'uomo, la cattura, la contenzione, la venipuntura, tutti eventi che costituiscono una fonte di notevole stress per il soggetto, e che sono quindi in grado di alterare gli indicatori ematici di benessere. L'entità dell'alterazione dipende dal grado di eccitabilità del singolo animale e

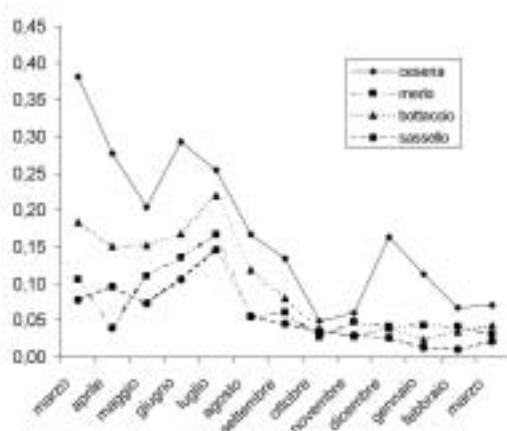


Fig. 2 – Andamento del rapporto Eterofili/Linfociti nelle diverse specie nel corso dell'anno.

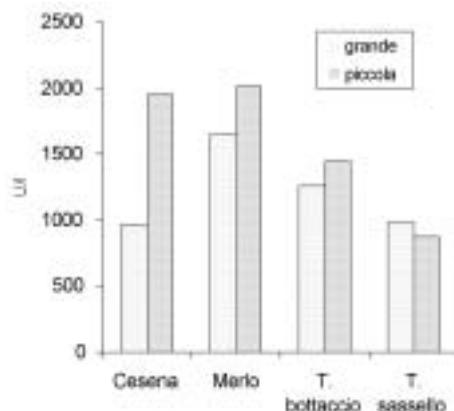


Fig. 3 – Valori medi della CK nelle diverse specie in relazione al tipo di gabbia.

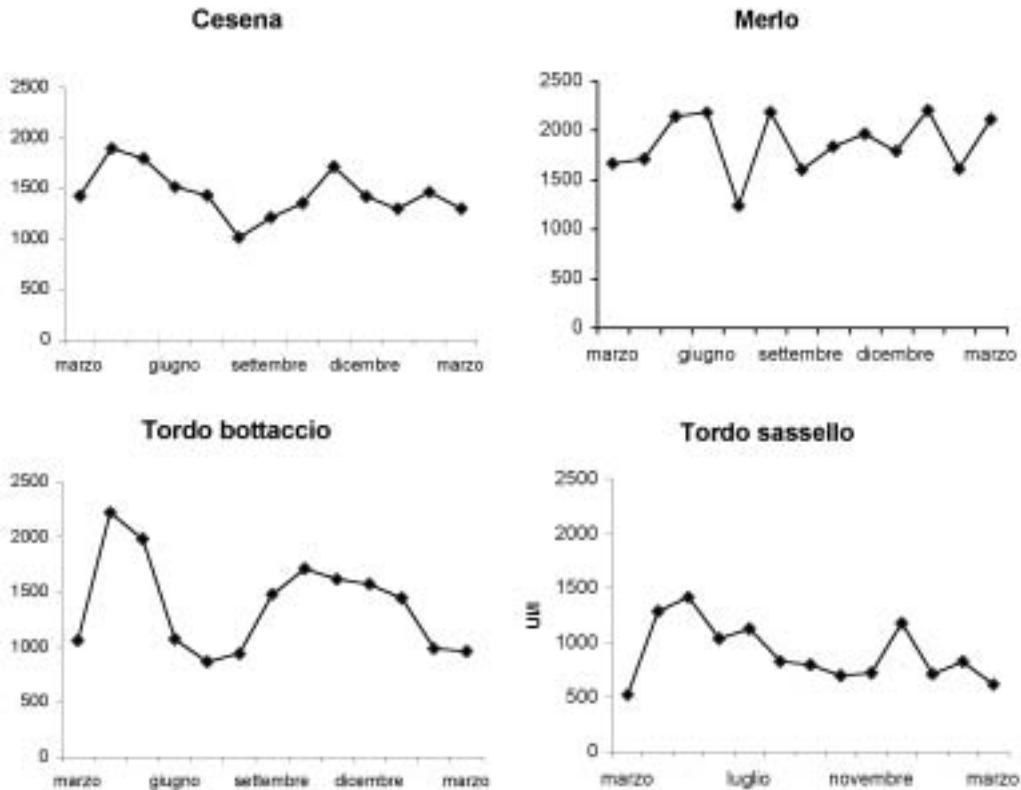


Fig. 4 – Andamento della CK nelle diverse specie nel corso dell'anno.

dall'eventuale abitudine che può instaurarsi quando lo stesso stressor viene ripetuto più volte (Locatelli *et al.*, 1989; Terlouw *et al.*, 1997). È quindi possibile che, nel corso del periodo sperimentale, gli effetti dello stress da prelievo diventino progressivamente meno evidenti.

In letteratura non risultano disponibili dati sui valori ematologici ed ematochimici "basali" delle quattro specie prese in esame. I valori medi da noi riscontrati sono comunque analoghi a quelli segnalati per altre specie di volatili (Di Modugno *et al.*, 1992; Hawkey, 1991; Kaneko *et al.*, 1997). Le differenze significative osservate per la maggior parte dei parametri tra le quattro specie del genere *Turdus*, rappresentano verosimilmente differenze su base genetica.

Pur tenendo sempre presente che nel nostro schema sperimentale è inevitabile un'interferenza legata alla manipolazione dei soggetti, tuttavia, dal momento che i gruppi sperimentali differiscono solo per le dimensioni della gabbia, si può ritenere che le differenze significati-

ve emerse nel corso del periodo sperimentale tra soggetti della stessa specie tenuti in gabbie di dimensioni diverse siano effettivamente imputabili a questa variabile.

Il rapporto eterofili/linfociti è risultato in tutte le specie, ed in particolare nella Cesena, più elevato nei soggetti delle gabbie grandi; tale rapporto è considerato nei volatili domestici un indice di stress tra i più indicativi, essendo influenzato direttamente dal corticosterone, che induce sia linfopenia che eterofilia (Campo & Redondo, 1996; Ghodasara *et al.*, 1991; Gross & Siegel, 1983; McFarlane *et al.*, 1989; Mitchell *et al.*, 1992). Nell'oca sottoposta a prelievo di sangue, il corticosterone aumenta nell'arco di 45 secondi-1 minuto, e risulta quindi essere indicativo di stress acuto (Le Maho *et al.*, 1992); le conseguenti modificazioni del rapporto eterofili/linfociti permangono più a lungo e possono quindi indicare anche stress cronici (Gross & Siegel, 1983). In alcune specie di uccelli la risposta a stimoli

**Tab. 2** - Valori medi ( $\pm$  deviazione standard) dei parametri ematochimici nelle diverse specie.

SPECIE	GLUCOSIO	PROTEINE	AC.URICO	AST	CK
	mmol/l	g/l	mmol/l	U/l	U/l
Cesena	14,94	35,12	860,08	520,25	1414,61
	$\pm 2,01$	$\pm 9,93$	$\pm 377,1$	$\pm 158,4$	$\pm 975,80$
Merlo	14,36	47,49	809,52	575,55	1846,15
	$\pm 2,34$	$\pm 10,89$	$\pm 577,5$	$\pm 153,15$	$\pm 1428,64$
Tordo bottaccio	13,41	37,67	1018,89	540,78	1393,37
	$\pm 2,39$	$\pm 7,35$	$\pm 458,0$	$\pm 172,79$	$\pm 1034,86$
Tordo sassello	15,63	34,53	710,79	470,37	918,81
	$\pm 2,17$	$\pm 4,79$	$\pm 248,6$	$\pm 163,63$	$\pm 789,54$
	***	***	**	***	***

Legenda: \*\* =  $P < 0,01$ ; \*\*\* =  $P < 0,001$

stressanti è invece caratterizzata da eteropenia e linfocitosi (Bhattacharyya e Sarkar, 1968). Non va inoltre dimenticato l'intervento nello stress acuto dell'adrenalina, che nei mammiferi, e verosimilmente anche negli uccelli (Powers *et al.*, 1994), causa neutrofilia e linfocitosi.

L'interpretazione delle variazioni del rapporto Et/L è quindi difficile, soprattutto in assenza del valore "basale" di ogni specie e a causa della variabilità di specie nella risposta a stimoli stressanti. Negli uccelli da noi indagati si sovrappongono lo stress acuto della cattura per il prelievo di sangue, e lo stress cronico, legato alla permanenza in gabbia. Il più elevato rapporto Et/L nei soggetti delle gabbie grandi è verosimilmente imputabile allo stress acuto, dal momento che la cattura è risultata obiettivamente più lunga e difficoltosa, per la maggior possibilità di fuga. Al primo prelievo nel marzo 1996, il rapporto Et/L è risultato in tutte le specie, in particolare nella Cesena, superiore a quello del marzo 1997, indicando che nel corso della sperimentazione si è comunque instaurata una certa "abitudine" alle condizioni di stabulazione e alla manipolazione, come già segnalato in altre specie (Terlouw *et al.*, 1997). Sul rapporto Et/L influiscono comunque anche altri stressors di tipo ambientale: in tutte le specie si è riscontrato, ad esempio, un netto aumento di questo valore nei mesi di giugno e luglio, caratterizzati, nei giorni del prelievo di sangue, da temperature ambientali molto elevate ( $>32^{\circ}\text{C}$ .), in grado di incrementare la liberazione di corticosterone negli uccelli (Faure *et al.*, 1988; Geraert *et al.* 1996). Anche in questo

caso il rapporto Et/L più elevato è stato riscontrato nella Cesena (Fig. 1), che d'altra parte trascorre solitamente i mesi estivi a latitudini più elevate (Bricchetti *et al.*, 1986; Pforr & Limbrunner, 1983) o, in Italia, sopra gli 800 metri. Un altro parametro che da alcuni Autori (Maxwell e Robertson, 1995) è ritenuto indice di stress è il numero dei granulociti basofili, che però, nel nostro caso, non ha presentato differenze imputabili al tipo di gabbia, alle manualità operative, o alle condizioni ambientali. I valori più elevati riscontrati nel Tordo sassello e Tordo bottaccio rispetto al Merlo sembrano quindi essere una caratteristica di specie. Per quanto riguarda gli altri parametri ematologici, non sono emerse differenze né tra i tipi di gabbie, né in relazione al prelievo di sangue, e non appaiono quindi indicativi di stress in queste specie. D'altra parte negli uccelli, a seguito di iniezione di adrenalina, non si verificherebbe spremitura della milza così efficace come nei mammiferi (Hawkey, 1991), e di conseguenza lo stress non provocherebbe variazioni consistenti del numero di emazie e del valore ematocrito. Non sono emerse nemmeno differenze stagionali, segnalate da altri Autori (Puerta *et al.*, 1995) in soggetti catturati nei mesi estivi o nel corso della migrazione, e attribuite a emocostrazione da disidratazione, che ovviamente non si è verificata nei nostri animali.

Il numero di leucociti ha presentato in tutte le specie notevoli variazioni individuali, come già segnalato negli uccelli in genere (Campbell, 1995).

Tra i parametri ematochimici marker di stress,

**Tab. 3** - Correlazione tra parametri ematochimici e ordine di esecuzione del prelievo di sangue.

SPECIE	PARAMETRO	R	P
Cesena	AST	0,39	***
	CK	0,45	***
Merlo	AST	0,33	***
	CK	0,37	***
	glucosio	0,19	*
Tordo sassello	glucosio	0,27	**

Legenda:

\* = P&lt;0,05; \*\* = P&lt;0,01; \*\*\* = P&lt;0,001

la glicemia non ha evidenziato variazioni significative tra le gabbie; tuttavia i valori più elevati sono stati riscontrati per tutte le specie al primo prelievo, che è in effetti risultato il più indaginoso. La glicemia appare quindi influenzata dallo stress acuto, che si accompagna a liberazione di ormoni iperglicemizzanti (adrenalina e corticosterone). In tal senso è da interpretare la correlazione, significativa per il Merlo e il Tordo sassello, tra valori glicemici e ordine di prelievo. I valori medi della glicemia sono risultati paragonabili a quelli riscontrati in altri uccelli (Kaneko *et al.*, 1997).

Differenze significative in relazione alle dimensioni delle gabbie sono state evidenziate per le attività enzimatiche esaminate, che in generale risultano più elevate nei soggetti delle gabbie piccole. Tuttavia tra le diverse specie è emerso un comportamento diverso sia dal punto di vista quantitativo che qualitativo. Mentre nella Cesena, nel Merlo i valori di CK e AST risultano più elevati nelle gabbie piccole, nel Tordo bottaccio e nel Tordo sassello sono sovrapponibili. Un'interpretazione di questi risultati non può ovviamente prescindere dalla conoscenza dei dati "basali" delle singole specie, che, come già detto, non sono disponibili. Per quanto riguarda il profilo d'organo di questi enzimi, la CK è considerata anche negli uccelli un marker della musculatura scheletrica e, in parte, cardiaca; la AST risulta distribuita in numerosi organi, e, pur essendo considerata tra gli indici di funzionalità epatica, come nei mammiferi, è presente anche a livello muscolare; in presenza di alterazioni muscolari sono segnalati aumenti della CK e della AST (Kaneko *et al.*, 1997). Variazioni consensuali di questi due enzimi suggeriscono quindi un coinvolgimento muscolare. Sarebbe quindi

che nei soggetti tenuti nelle gabbie piccole si verificano alterazioni delle fibre muscolari che comportano una maggior fuoriuscita di enzimi nel sangue. In questi soggetti le dimensioni ridotte della gabbia permettono solo una attività motoria scarsa, e non consentono di distendere le ali; è quindi probabile che si instauri un certo grado di ipotrofia muscolare. Anche se non si può escludere che lo scarso spazio a disposizione aumenti la probabilità di lesioni traumatiche contro le pareti della gabbia, è però verosimile che le fibre muscolari meno sviluppate siano più permeabili e rilascino una maggior quantità di enzimi come conseguenza della eccitazione e dell'attività che si verificano a seguito della manipolazione per il prelievo di sangue (Kaneko *et al.*, 1997). Un fenomeno analogo è stato segnalato nel cavallo sportivo, in cui l'incremento ematico di CK durante l'attività fisica risulta molto maggiore nei soggetti non allenati (Trombetta & Falaschini, 1995).

La Cesena risulta la specie più sensibile, come è comprensibile essendo quella di dimensioni maggiori, seguita dal Merlo e dal Tordo bottaccio. Il Tordo sassello invece, probabilmente per le dimensioni minori che gli consentono comunque un certo movimento, è quello che mostra le variazioni più modeste. Nella Cesena e nel Merlo, il fatto che i valori di CK e di AST aumentino col numero d'ordine del prelievo sembrerebbe indicare che i soggetti di queste specie siano più eccitabili e che presentino una maggiore agitazione. Va sottolineato infine che i valori medi delle attività enzimatiche riportati in tabella 2 sono verosimilmente superiori ai reali livelli "basali" di queste specie, in quanto influenzati sia dalle manipolazioni sia dalle condizioni di stabulazione. Sono stati infatti riscontrati con una certa frequenza valori singoli molto elevati, al di fuori dei limiti di riferimento per gli uccelli in genere (Kaneko *et al.*, 1997). Le variazioni osservate per la CK nel corso dell'anno, con tendenza all'aumento nei mesi primaverili e autunnali, potrebbero essere espressione di una maggiore attività motoria nel periodo in cui in natura si compie la migrazione, che essendo un fenomeno innescato da una componente genetica e da una ambientale, tende a manifestarsi anche in cattività. Nel periodo più freddo può contribuire verosimilmente anche la contrazione involontaria (brivido) utilizzato dai volatili per incrementare la termogenesi (Freeman, 1983); a questo proposito va sottolineato che la Cesena, il Tordo sassello ed il Tordo bottaccio svernano

di regola in climi più caldi. La protidemia non ha presentato variazioni nel corso dell'anno, contrariamente a quanto segnalato in letteratura (Puerta et al., 1995). In uccelli catturati nel periodo della muta sono stati osservati bassi valori di proteine sieriche, attribuiti alle notevoli attività biosintetiche per la produzione delle penne (Veiga e Puerta, 1996). È peraltro verosimile che gli uccelli in cattività riescano a sopperire meglio con la dieta alle aumentate richieste proteiche. La tendenza all'aumento dell'acido urico nel corso del periodo sperimentale fa addirittura supporre un eccessivo apporto proteico, dal momento che negli uccelli l'eccesso di proteine viene catabolizzato ad acido urico (Kaneko et al. 1997).

In conclusione dall'esame complessivo dei risultati pare che le specie in esame si adattino abbastanza bene alle condizioni di cattività in quanto non si evidenziano modificazioni da stress cronico. Tuttavia la scarsa possibilità di movimento sembra indurre alterazioni muscolari, soprattutto nella Cesena e nel Merlo, più evidenti nei soggetti delle gabbie piccole. Per queste specie, di dimensioni maggiori rispetto alle altre due, appare quindi preferibile il mantenimento in gabbie più grandi di quelle tradizionali, che permetterebbero una maggiore attività fisica consentendo un miglior trofismo muscolare.

## 5. Ringraziamenti

Lavoro eseguito con il contributo della regione Lombardia. Si ringrazia il Sig. Aldo Reguzzoni per la sua gentilezza e la cortese collaborazione nel governo degli animali.

## Bibliografia

- BHATTACHARYYA T.K. & SARKAR A.K. (1968) - Avian leukocyte responses induced by stress and corticoid inhibitors. *Indian Journal of Experimental Biology*, 6: 26-28.
- BRICHETTI P.A., CAGNOLARO L. & SPINA F. (1986) - *Uccelli d'Italia*, Giunti Editore, Firenze.
- CAMPBELL T. W. (1995) - *Avian Haematology and Cytology*. II ed. Iowa State University Press. Ames.
- CAMPO J.L. & REDONDO A. (1996) - Tonic immobility reaction and heterophil to lymphocyte ratio in hens from three Spanish breeds laying pink eggshells. *Poultry Science*, 75: 155-159.
- DI MODUGNO G., SOTTILI R. & RICCI V. (1992) - Parametri ematologici ed ematochimici in alcune specie di rapaci diurni e notturni, *Atti I Seminario nazionale centri Recupero Avifauna. Vanzago, 10-11 marzo 1991*. W.W.F. Serie atti e studi n°9: 55-66.
- FAURE J.M., LAGADIC N. & MILLS A.D. (1988) - Le stress chez le poule, *Rec. Méd. Vét.*, 164: 857-861.
- FREEMAN B.M. (1983) - *Physiology and Biochemistry of the domestic fowls*. Academic Press. London.
- GALLAZZI D., GRILLI G., CONCINA E., RIPEPI P., GRANATA R. & VIGORITA V. (2004) - Valutazione dello stato sanitario di turdidi da richiamo in gabbie di dimensioni tradizionali o maggiori. Parte I: aspetti morfologici, parassitologici e mortalità. *J. Mt. Ecol.* 7 (Suppl.): 43 - 57.
- GERAERT P.A., PADILHA J.C.F. & GUILLAUMIN S. (1996) - Metabolic and endocrine changes induced by chronic heat exposure in broiler chickens: biological and endocrinological variables. *British Journal of Nutrition*, 75: 205-216.
- GHODASARA D.J., PRAJAPATI K.S. & RANK D.N. (1991) - Effect of summer stress on haematological value in layer kept under different systems of housing. *Indian Journal of Animal Sciences*, 61: 658-659.
- GROSS W.B. & SIEGEL H.S. (1983) - Evaluation of the heterophil-lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. *Avian Disease*, 27: 972-979.
- HAWKEY C.M. (1991) - The values of comparative haematological studies. *Comparative Haematology International*, 1: 1-9.
- KANEKO J.J., HARVEY J.W. & BRUSS M.L. (1997) - *Clinical biochemistry of domestic animals*. Academic Press. San Diego.
- LE MAHO Y., KARMANN H., BRIOT D., HANDRICH Y., ROBIN J-P, MIOSCOWSKI E., CHEREL Y. & FARMY J. (1992) - Stress in bird due to routine handling and a technique to avoid it. *American Journal of Physiology*, 263: 775-781.
- LOCATELLI A., SARTORELLI P., AGNES F., BONDILOTTI G.P. & PICOTTI G. (1989) - Adrenal response in the calf to repeated simulated transport. *British Veterinary Journal*, 145: 517-522.
- LUKAS A.M. & JAMROZ C. (1961) - *Atlas of Avian Haematology*, Agriculture Monograph-United State Department of Agriculture
- MAXWELL M.H. & ROBERTSON G.W. (1995) - The avian basophilic leucocyte: a review. *World's Poultry Science Journal*, 51:307-319.
- MCFARLANE J.M., CURTIS S.E., SIMON J. & IZQUIERDO O.A. (1989) - Multiple concurrent stressors in chicks. 2. Effects on hematology, body composition and pathologic traits. *Poultry Science*, 68: 510-521.
- MITCHELL M.A., KETTLEWELL P.J. & MAXWELL M.H. (1992) - Indicators of physiological stress in broiler chickens during road transportation, *Animal Welfare*, 1: 91-103.
- NATT M.P. & HERRICK C.A. (1952) - A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of chickens. *Poultry Science*, 31: 735-738.
- PFORR M. & LIMBRUNNER A. (1983) - *Uccelli d'Europa - Atlante illustrato*. Luigi Reverdito Editore. Trento.
- POWERS V.L., POKRAS M., RIO K., VIVERETTE C. & GOODRICH L. (1994) - Hematology and occurrence of hemoparasites in migrating sharp-shinned hawks (Accipiter striatus) during fall migration. *Journal Raptor Research*, 28: 178-185.
- PUERTA M., NAVA M.P., VENERO C. & VEIGA J.P. (1995) - Hematology and plasma chemistry of house sparrows (*Passer domesticus*) along the summer months and after testosterone treatment. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 110A: 303-307.

- TERLOUW E.M.C., SCHOUTEN W.G.P. & LADEWIG J. (1997) - Physiology. In: Appleby M.C. e B.O.Hughes (eds.), *Animal Welfare*. CAB International
- TROMBETTA M.F. & FALASCHINI A. (1995) - Modificazioni di alcuni parametri ematici indotte dal training in giovani trottatori. *Atti S.I.S.Vet.*, 49: 257-258.
- VEIGA J.P. & PUERTA M. (1996) - Nutritional constraints determine the expression of a sexual trait in the house sparrow, *Passer domesticus*, *Proceedings of the Royal Society of London B.*, 263: 229-234.
- ZUCCA P. (1995) - Valutazione dello stato di una popolazione di rapaci mediante l'esame dei parametri ematici. *Suppl. Ric. Biol. Selvaggina*, 22: 339-343.



# INDAGINE PRELIMINARE SULL'AMBIENTAMENTO DI STARNE ALLEVATE CON METODI INTENSIVI

Piccirillo A.\*, Troisi S.\*\*\*, Baiano A.\*, Menna L.F.\*, Fioretti A.\*

\* Sezione di Patologia Aviare, Dipartimento di Patologia e Sanità Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Napoli Federico II - Via EDelpino, 1 - 80137 Napoli

\*\* Studi di Ecologia Applicata (S.E.A.) - Via Caravaggio, 143/y - 80126 Napoli

**Riassunto** - Gli Autori riportano i risultati di un'indagine preliminare che aveva lo scopo di far adattare alle condizioni di vita naturale starni *Perdix perdix* provenienti da un allevamento intensivo, nella Zona di Ripopolamento e Cattura di "Serre-Persano" (SA). Nel corso dell'indagine è stato valutato anche lo stato sanitario degli animali. Le starni, dopo aver sostato per circa 2 settimane nel parchetto di ambientamento sono state liberate progressivamente in gruppi di 4, a distanza di una settimana l'uno dall'altro. Al momento dell'arrivo, al rilascio ed alla cattura sono stati effettuati campionamenti individuali da sottoporre ad esami microbiologici. Nei due mesi di indagine non si è verificato alcun caso di mortalità nelle strutture di ambientamento, mentre il tasso di sopravvivenza fra gli animali rilasciati è stato del 58,3%. Gli animali hanno manifestato anche la tendenza a modificare i propri schemi comportamentali. Gli esami di laboratorio non hanno permesso l'isolamento di microrganismi di particolare rilievo. Questi risultati confermano la necessità di adoperare corretti sistemi di rilascio per migliorare la capacità di ambientamento e di sopravvivenza degli animali.

**Abstract** - Preliminary investigation on the adaptation of intensively reared Grey partridge. Authors report the results of a preliminary investigation about the adaptation of intensively reared Grey partridges *Perdix perdix* in the wild, in the Area for Restocking and Capture "Serre-Persano" (Salerno, Italy). Part of this study involved the monitoring of health condition of the birds. Grey partridges, after about two weeks in the adaptation pen, have been progressively released, in a group of four every week. On their arrival, release and capture, each bird has been sampled in order to carry out microbiological exams. During the research period no bird died in the release pen, while the survival rate of the released birds was 58.3%. Birds have also shown a propensity to change their behavioral schemes. Microbiological exams failed to show the presence of any significant microorganism. These results strongly suggest the need to use correct release methods to improve the adaptation ability and the survival rate of the birds.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 69 - 73

## 1. Introduzione

Negli ultimi decenni si è verificata una drastica riduzione della consistenza delle popolazioni naturali di starna *Perdix perdix*, conseguente soprattutto a radicali modificazioni dell'ambiente e ad una forte pressione venatoria. Sebbene il fenomeno abbia riguardato molti Paesi europei, in Italia il declino della specie ha assunto le proporzioni più drammatiche, in particolare in Italia centro-meridionale la starna sembra di fatto essere scomparsa (Cocchi *et al.*, 1993; Toso & Cattadori, 1993).

A seguito della rarefazione della specie allo stato naturale e del conseguente aumento della richiesta venatoria si è verificata una notevole diffusione dell'allevamento in stretta cattività (Mori & Bagliacca, 1987). Tuttavia, i risultati che si ottengono con l'immissione in natura di animali di allevamento, soprattutto quando hanno come finalità il ripristino o il potenziamento di popolazioni selvatiche, sono molto spesso deludenti (Bagliacca, 1998). Gli attuali sistemi di allevamento, infatti, prevedono l'a-

dozione di tecniche in grado di determinare profonde modificazioni nella morfologia, fisiologia e comportamento degli animali, difficilmente compatibili con la sopravvivenza e la riproduzione nell'ambiente naturale (Papeschi & Dessi-Fulgheri, 1997).

Al fine di facilitare l'inserimento in natura degli animali provenienti da allevamenti intensivi, quindi, si rende necessaria l'adozione di una serie di accorgimenti che assecondino le esigenze biologiche della specie durante la fase dell'ambientamento. In via preliminare, oltre a modificare alcune tecniche di allevamento, bisognerebbe indagare anche sulle cause che hanno determinato la riduzione delle popolazioni naturali ed intervenire, per quanto possibile, affinché esse si riducano. Nel momento in cui si procede all'immissione degli animali, bisogna porre molta attenzione all'età dei soggetti, all'epoca ed alle modalità attraverso le quali avviene il rilascio, alle strutture per l'ambientamento, nonché al territorio prescelto ed al sito di rilascio. E' necessario, inoltre, adotta-

re misure volte al miglioramento ambientale, alla protezione temporanea della specie ed al controllo dei predatori. Solo in questo modo è possibile ottenere la ricostituzione di una vera e propria popolazione autosufficiente (Mussa & Debernardi, 1987; Zanni *et al.*, 1991).

Tra le problematiche che gravano sull'allevamento intensivo, lo stato sanitario degli animali può assumere notevole importanza per le possibili ripercussioni non solo sul ciclo stesso di allevamento, ma anche in seguito al rilascio in natura. A causa soprattutto delle condizioni di elevate densità, infatti, si possono verificare gravi problemi di ordine sanitario che, fin quando gli animali si trovano in allevamento, possono essere risolti con interventi di tipo farmacologico. Una volta liberati in natura, gli animali non possono più essere protetti, con il risultato di una esacerbazione di stati patologici latenti. Questa condizione viene ulteriormente aggravata dallo stress elevato cui vanno incontro gli animali in seguito alla cattura in allevamento, trasporto e liberazione sul nuovo territorio (Mantovani, 1995; Papeschi & Dessì-Fulgheri, 1997). Inoltre, il rischio sanitario legato all'immissione in natura di animali allevati in condizioni di stretta cattività, quali potenziali fonti di agenti patogeni di varia natura, può essere rilevante per le possibili ripercussioni non solo sullo stato sanitario di altre specie allevate intensivamente o popolazioni selvatiche presenti sul territorio, ma anche dell'uomo (Mani, 1998).

Recentemente l'Assessorato Caccia e Pesca della Provincia di Salerno, per operare una corretta gestione della fauna di interesse venatorio, ha attuato una collaborazione con l'Università di Napoli Federico II, che ha fra le sue finalità quella di reintrodurre la starna in territori storicamente abitati da questa specie. In questa sede vengono riportati i risultati di un'indagine preliminare che aveva l'obiettivo di facilitare l'ambientamento in natura di starne provenienti da un allevamento intensivo, attraverso l'adozione di un'adeguata metodologia di rilascio. Nel corso dell'indagine è stato valutato anche lo stato sanitario degli animali.

## 2. Materiali e metodi

### 2.1. Animali

Per questa prova sono state utilizzate 20 starne di 90 giorni d'età, provenienti da un allevamento di selvaggina situato nella stessa Provincia di Salerno. Sebbene di piccole dimensioni, in tale allevamento si ha una produzione annua di capi di circa 16.000 fagiani e

4.000 starne, destinati prevalentemente all'attività venatoria.

L'intero ciclo produttivo viene condotto con strutture e metodologie proprie dell'allevamento intensivo. In particolare, la fase di incubazione e schiusa vengono condotte mediante l'impiego di incubatrici artificiali. Dalla nascita fino all'età di 80-90 giorni, i pulcini vengono allevati in pulcinaie a terra, con riscaldamento artificiale nel primo periodo di vita. Solo in età tardiva dunque i giovani hanno la possibilità di accedere a voliere all'aperto, inadeguate sia per dimensioni sia per presenza di vegetazione. L'alimentazione dei giovani si basa esclusivamente sulla somministrazione di mangimi artificiali, il cui contenuto in fibra grezza e proteine va dal 3,5% e 28% (dal 1° al 45° giorno di vita) al 6% e 23,5% (dal 45° giorno di vita fino alla vendita), rispettivamente. Non è infrequente, inoltre, l'uso di mangimi contenenti molecole ad attività antibatterica ed antiparassitaria.

A causa delle elevatissime densità durante tutte le fasi del ciclo (da 500 pulcini/m<sup>2</sup> nel primo periodo a 4 capi/m<sup>2</sup> nella fase finale in voliera), si rende necessario adottare mezzi per limitare i fenomeni di aggressività, quali penombra nella prima fase ed anello di plastica nell'ultima fase di allevamento. La profilassi vaccinale viene attuata esclusivamente nei riproduttori, al momento dell'accasamento, nei confronti della Malattia di Newcastle e Corizza infettiva.

### 2.2. Fase di ambientamento

La prova è stata condotta nell'estate 1998 in un'azienda agricola privata, situata all'interno della Zona di Ripopolamento e Cattura di "Serre-Persano", un'area di circa 1.200 ha in provincia di Salerno. L'uso del suolo in quest'azienda è caratterizzato da un'alternanza di uliveti, noceti, vigneti, seminativi (soprattutto mais ed erba medica), piccole aree boschive ed arbustive; è presente anche un corso d'acqua torrentizio.

Al loro arrivo (inizio mese di giugno), dopo essere stati muniti di un anello di identificazione, gli animali sono stati immessi nel parchetto di ambientamento, che aveva le seguenti caratteristiche: area di 7, 6 m<sup>2</sup> ed altezza di 1 m; pareti in rete metallica plasticata a trama salvauro fitta antinocivi; copertura di protezione e contenimento in rete morbida. All'interno del parchetto era presente un abbeveratoio, una mangiatoia ed una piccola tettoia che fungeva da rifugio. Esso, inoltre, era circondato da un recinto di protezione in cemento (25x20 m e 2,5 m di altezza), per limitare ulteriormente

l'accesso ad eventuali predatori. Prima di iniziare i rilasci, eseguiti a gruppi di 4 individui, gli animali hanno sostato nella struttura per 2 settimane. I gruppi venivano liberati a distanza di una settimana l'uno dall'altro, ad eccezione dell'ultimo gruppo lasciato nel parchetto fino agli inizi del mese di agosto (circa due mesi dopo l'arrivo). A questo punto si è ritenuta conclusa la prova.

Durante la fase di ambientamento è stato messo a disposizione degli animali sia il mangime di allevamento che l'alimento naturale, rappresentato dagli stessi semi e le stesse specie vegetali disponibili nel sito di rilascio. Anche agli animali rilasciati, per la predisposizione di mangiatoie ed abbeveratoi all'esterno dei recinti di ambientamento, è stato garantito l'approvvigionamento alimentare ed idrico.

### 2.3. Controllo sanitario

Oltre ad accertare le condizioni di salute degli animali e la causa di eventuali decessi avvenuti durante la fase di ambientamento e successivo rilascio, è stato condotto un monitoraggio nei confronti di *Salmonelle* e di *Ortho-* e *Paramyxovirus*. Per la ricerca dei suddetti patogeni, sono stati eseguiti campionamenti individuali (tamponi cloacali e prelievi di sangue) in tre momenti diversi: al momento dell'arrivo (tutti gli individui), al rilascio (gruppo di 4 individui) ed alla cattura (solo una volta sono stati catturati 3 individui). All'arrivo e durante la fase di ambientamento si è proceduto anche alla raccolta di campioni di feci da sottoporre ad esame copro-microscopico per l'evidenziazione di eventuali parassiti.

I campioni di sangue venivano sottoposti a prove di Inibizione dell'Eteroagglutinazione con antisieri specifici nei confronti di *Ortho-* e *Paramyxovirus*, mentre i tamponi cloacali venivano utilizzati per l'isolamento, oltre che dei suddetti virus, anche di batteri appartenenti al genere *Salmonella*, secondo le metodiche descritte dalla Commissione della Comunità Europea (AA.VV. 1986a,b) e dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (AA.VV., 1994).

### 3. Risultati e discussione

Fin quando gli animali erano ospitati nel parchetto di ambientamento non si è verificato alcun decesso; a conclusione della prova, invece, si registrava fra gli animali rilasciati una percentuale di sopravvivenza del 58,3%. Casanova & Cellini (1986) hanno riportato percentuali di sopravvivenza di starnotti a 90 giorni allevati con sistemi semi-naturali com-

prese fra il 52,51 ed il 64,21%. Altri Autori hanno ottenuto percentuali del 30-45% in epoca venatoria, con l'immissione in piccole voliere e rilascio graduale dei soggetti nell'arco di 7 giorni (Coles cit. da Mussa & Debernardi, 1987). Altri ancora hanno avuto tassi di sopravvivenza del 50% a 2 mesi dal rilascio, rilasciando animali di 8/12 settimane di età (Mantovani, 1995).

Tenuto conto della provenienza degli animali, si ritiene che i risultati ottenuti siano da ricondurre soprattutto alle modalità attraverso le quali è stata condotta la fase di ambientamento, mirate a ridurre alcuni degli effetti negativi indotti dall'allevamento. Il ricorso alle strutture di ambientamento ed il progressivo rilascio degli animali, oltre a rendere graduale il passaggio tra la vita in cattività e quella in libertà, riducendo così al minimo lo stress conseguente al brusco cambio di ambiente, hanno fatto in modo che gli animali acquisissero alcuni di quei comportamenti, altrimenti assenti negli animali allevati con tecniche artificiali.

Gli animali rilasciati, infatti, pur spostandosi sul territorio, hanno mostrato una forte tendenza a rimanere nelle immediate vicinanze del parchetto e ad unirsi ai compagni rimasti in esso nel tentativo di creare la brigata. Per contro, alcuni Autori riportano che animali allevati con sistemi artificiali mostrano una marcata tendenza alla dispersione, compiendo erratismi anche di diversi chilometri, ed un'incapacità di dare vita ai solidi legami sociali propri della brigata. Infatti, molto spesso si ritrovano soli o in piccolissimi gruppi di 2-3 individui (Casanova & Betti, 1982; Mantovani *et al.*, 1992).

Altri fattori che possono aver contribuito al successo della prova sono l'età degli animali e l'epoca ed il luogo in cui essa è avvenuta. In letteratura si riporta che i soggetti giovani sono più adattabili ad un nuovo ambiente rispetto agli adulti, poiché riescono più facilmente a modificare i propri schemi comportamentali (Casanova & Betti, 1982). Per quanto riguarda la scelta del luogo, è necessario precisare che essa non è avvenuta a caso, ma sulla base di indagini preliminari volte ad evidenziare aree che presentassero le caratteristiche di habitat idonee alla specie e garantissero una disponibilità alimentare adeguata alla copertura dei fabbisogni nutritivi.

Nell'intento di ridurre al minimo lo stress del passaggio dall'alimentazione artificiale a quella naturale e di stimolare gli animali alla ricerca e riconoscimento dell'alimento, il regime alimentare è stato modificato gradualmente, som-

ministrando contemporaneamente il mangime concentrato ricevuto in allevamento integrato con il mangime semplice. Gli animali, infatti, hanno conservato durante l'intero periodo un buono stato di nutrizione. Alcuni Autori hanno dimostrato che animali alimentati, durante la fase di allevamento, con mangimi contenenti un basso tenore in fibra grezza presentano una significativa riduzione della lunghezza dell'intestino tenue e cieco rispetto ai conspecifici selvatici. Inoltre, il periodo di adattamento necessario affinché i ciechi raggiungano uno sviluppo corretto risulta relativamente lungo (2-3 mesi). Quando si verifica un cambio repentino del regime alimentare, questa modificazione anatomica può indurre un peggioramento delle condizioni fisiche tale da causare la morte dell'animale. Anche l'oggettiva incapacità degli animali a riconoscere gli alimenti, in quanto abituati a ricevere solo mangime nelle mangiatoie, può contribuire a rendere più difficile il processo di adattamento alle condizioni di vita selvatica (Mantovani, 1995; Paganin & Meneguz, 1991; Paganin *et al.*, 1993).

Durante la fase di ambientamento e dopo il rilascio le condizioni di salute degli animali si sono mantenute buone, così come gli esami di laboratorio non hanno permesso l'isolamento di microrganismi di particolare rilievo. Sebbene consapevoli dell'enorme varietà di microrganismi che possono trovarsi in animali provenienti da allevamenti intensivi e della loro importanza da un punto di vista epidemiologico, si è ritenuto utile effettuare il monitoraggio prevalentemente nei confronti di *Salmonelle* ed *Ortho-* e *Paramyxovirus*. In letteratura si riporta che le infezioni sostenute da *Salmonelle* sono frequenti negli allevamenti intensivi di selvaggina da penna e possono rappresentare un serio problema con importanti riflessi di ordine epidemiologico, ricollegabile all'instaurarsi dello stato di portatore-eliminatore asintomatico, ed antropozoonotico, relativamente al rischio di contagio per l'uomo (Mani, 1998). Si è ritenuto utile effettuare anche il monitoraggio nei confronti di *Ortho-* e *Paramyxovirus*, in quanto non è stato ancora definito il ruolo che la selvaggina stanziale potrebbe avere nella trasmissione di questi virus. Questi uccelli sono sensibili, sia ai virus influenzali che al PMV-1, e perciò da considerare come potenziale fonte di infezione. Inoltre, tenuto conto del fatto che l'allevamento di queste specie viene condotto prevalentemente in voliere all'aperto, si può ben comprendere il rischio elevato di contrarre l'infezione attraverso

il contatto con uccelli selvatici, potenziali veicoli di tali virus (Alexander, 1993a,b). Non va dimenticato, infine, che gli agenti patogeni oggetto di studio sono responsabili di infezioni e zoonosi soggette a denuncia obbligatoria e ad eradicazione (Benazzi P., 1989; D.P.R. 15/11/96 n°656; D.P.R. 15/11/96 n°657).

Nonostante le dimensioni del campione fossero ridotte e siano stati considerati solo alcuni aspetti della problematica relativa al reinserimento in natura di animali allevati con tecniche artificiali, si ritiene comunque che, con l'adozione di una corretta metodologia, è possibile migliorare la capacità di adattamento alle condizioni di vita naturale e l'immediata sopravvivenza degli animali. Inoltre, il ricorso a strutture di ambientamento può consentire di controllare gli animali da un punto di vista sanitario, al fine di evitare il rischio patologico e la possibilità di diffusione di agenti patogeni.

### Bibliografia

- ALEXANDER D.J. (1993a) - Orthomyxovirus infection. In: McFerran J.B. e McNulty M.S. (eds.), *Virus Infection of Birds*, 1st ed., Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, Netherlands, 287-316.
- ALEXANDER D.J. (1993b) - Newcastle Disease. In: McFerran J.B. e McNulty M.S. (eds.), *Virus Infection of Birds*, 1st ed., Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, Netherlands, 287-316.
- AA.VV. (1986a) - Report and Recommendation of Scientific Group on Contagious Diseases in Poultry (*Avian Orthomyxoviruses*) - Commission of European Community ; IV/2914/86-EN.
- AA.VV. (1986b) - Report and Recommendation of Scientific Group on Contagious Diseases in Poultry (*Avian Paramyxoviruses*) - Commission of European Community ; VI/5541/86-EN.
- AA.VV. (1994) - Guidelines on Detection and Monitoring of Salmonella Infected Poultry Flocks with Particular Reference to Salmonella enteritidis (Wray C. & Davies R.H. Eds.), World Health Organization, Veterinary Public Health Unit.
- BAGLIACCA M. (1998) - Piccola selvaggina, sono queste le strutture. *Riv. Avic.*, 1/2:21-30.
- BENAZZI P. (1989) - Il Regolamento di Polizia Veterinaria. Esculapio (ed.), Bologna.
- CASANOVA P. (1981) - Allevamento dei volatili da caccia. *Riv. Avic.*, 9:33-38.
- CASANOVA P. & BETTI A. (1982) - Osservazione su alcune differenze etologiche nel fagiano e nella starna. *Riv. Avic.*, 11:11-15.
- CASANOVA P. & CELLINI L. (1986) - Alcune prove comportamentali condotte sulla starna: note riasuntive. *Riv. Avic.*, 1:35-42.
- COCCHI R., GOVONI M. & TOSO S. (1993) - La starna. Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica, Documenti Tecnici, 14.
- MANI P. (1998) - Anche la selvaggina si ammala. *Riv. Avic.*, 9:40-44.

- MANTOVANI C. (1995) - Problematiche della selvaggina di allevamento. *Riv. Avic.*, 6:21-32.
- MANTOVANI C., VERGA M., ZULLINO P. & HEINZL E. (1992) - Rilascio di starne, allevate con differenti stimoli di imprinting, nell'oasi WWF di Vanzago. *Riv. Avic.*, 11:47-52.
- MORI B. & BAGLIACCA M. (1987) - La starna: ambiente ed alimentazione. *Atti del IX Convegno Gruppo di Studio per gli Allevamenti di Selvaggina, Bastia Umbra (PG)*, pp.47-57.
- MUSSA P.P. & DEBERNARDI M. (1987) - Allevamento e reintroduzione di piccola selvaggina stanziale: situazione attuale e prospettive di miglioramento. *Atti IX Convegno Gruppo di Studio per Allevamenti di Selvaggina, Bastia Umbra (PG)*, pp.85-99.
- PAGANIN M. & MENEGUZ P.G. (1991) - Considerazioni ed implicazioni di carattere gestionale sulla lunghezza dell'intestino della coturnice (*Alectoris graeca*). *Suppl. Ric. Biol. Selvaggina*, XIX:303-310.
- PAGANIN M., G. DONDINI, S. VERGARI & DESSI-FULGHERI F. (1993) - La dieta e l'esperienza influenzano la sopravvivenza di coturnici (*Alectoris graeca*) liberate in natura. *Suppl. Ric. Biol. Selvaggina*, XXI:669-676.
- PAPESCHI A. & DESSI-FULGHERI F. (1997) - Ripopolamento, limiti e rischi dell'allevamento. *Riv. Avic.*, 12:19-25.
- TOSO S. & CATTADORI I. (1993) - La starna (*Perdix perdix*, L.) in Italia: analisi dell'origine e della presenza storica di una specie influenzata dalle attività antropiche. *Suppl. Ric. Biol. Selvaggina*, XXI:175-186.
- ZANNI M.L., A. TROCCHI & TASSELLI I. (1991) - I ripopolamenti con piccola selvaggina stanziale allevata in cattività: strutture e metodi per il rilascio. *Atti I Convegno Europeo Gruppo di Studio per Allevamenti di Selvaggina, Grado (GO)*, pp.321-328.



# INTERVENTI DI CONTROLLO NUMERICO DELLE POPOLAZIONI RECETTIVE E DINAMICA DELLE INFEZIONI

Guberti V., Zamboni L., Corrain R.

Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica - Via Ca' Fornacetta, 9 - 40064 Ozzano E. (BO)

**Riassunto** - Il presente lavoro analizza le strategie e le tecniche utilizzate nella gestione sanitaria della fauna selvatica in Italia. Il depopolamento è la tecnica utilizzata più frequentemente con l'intento di ridurre sia la prevalenza sia l'incidenza delle infezioni. Tuttavia questa tecnica spesso determina risultati poco efficaci quando non del tutto contrari a quelli attesi. Viene proposta una semplice metodologia da applicarsi nel controllo o nell'eradicazione delle malattie trasmissibili nella fauna selvatica. L'intera popolazione deve essere il target dell'intervento, evitando di effettuare distinzioni, spesso irrealizzabili, tra animali infettanti, ammalati, sani o immuni. La popolazione in cui si vuole intervenire deve rappresentare il serbatoio epidemiologico dell'infezione da sottoporre a controllo (ad esempio le volpi e la rabbia). La malattia che si vuole controllare deve essere rilevante o dal punto di vista economico (Lista A dell'O.I.E.), o da quello di sanità pubblica (zoonosi) o dal punto di vista conservazionistico (rogna nel camoscio). I fattori di rischio intrinseci alla popolazioni che favoriscono la persistenza dell'agente eziologico devono essere attentamente riconosciuti (ad esempio alterazioni della naturale struttura per classi di sesso e di età, densità). L'intervento primario dovrà essere indirizzato nel rimuovere i fattori di rischio responsabili del mantenimento dell'infezione nella popolazione. Qualora non sia possibile modificare significativamente i fattori di rischio è possibile attuare un intervento di depopolamento. L'intervento di depopolamento dovrà raggiungere la densità soglia di trasmissione dell'infezione che si vuole controllare o eradicare, in caso contrario viene favorito il fenomeno dell'endemizzazione. Strategie alternative quali la vaccinazione, far nulla o modificare i sistemi di caccia o quelli di allevamento degli animali da reddito simpatrici devono essere attentamente valutati ed eventualmente applicati.

**Abstract - Host depopulation and dynamic of infectious diseases in wildlife.** This paper analyses strategies and techniques applied in Italy for controlling or eradicating wildlife diseases. Very often the usual intervention is represented by depopulation aimed in reducing both prevalence and incidence. However depopulation results in very poor, sometimes adverse, effects on diseases diffusion and persistence. A very simple framework is proposed for wildlife diseases control or eradication. The whole population should be the target of any interventions and thus avoiding misleading distinction between infectious, diseased, healthy and immune individuals. The wild population must be the epidemiological reservoir of the infection to be controlled (i.e. fox and rabies). The diseases has to be relevant for economical (A list O.I.E.) sanitary (zoonoses) or conservation (mange in Chamois) reasons. The population intrinsic risk factors allowing infection persistence have to be assessed (i.e. disrupted age and gender classes, density). The infection should be contrasted managing and modifying the risk factors. Whenever risk factors cannot be managed, depopulation can be performed. Depopulation must reach the host population threshold density for extinction/eradication of the infection, otherwise endemic stability will be favoured. Alternative strategies such as vaccination, sit and wait, modifying hunting or livestock management have to be accurately explored.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 75- 84

## 1. Introduzione

L'attuale gestione delle infezioni negli animali selvatici trae la sua origine da due ben distinte linee di pensiero, quella veterinaria e quella venatoria e, il più delle volte, utilizza come intervento sanitario il depopolamento, ovvero il controllo numerico delle popolazioni recettive. Esistono, in realtà, altri strumenti sanitari (es. vaccinazione e terapia) applicati normalmente agli animali domestici, ma, poiché in passato si è ricorsi esclusivamente all'abbattimento degli animali ammalati nella convinzione di eliminare le infezioni (Henderson, 1982; Fernández-Morán *et al.*, 1997), è importante discutere l'efficacia di questo tipo di intervento e se veramente rappresenti l'unica possibilità di management delle infezioni diffusibili nelle

specie selvatiche. L'impostazione veterinaria estende pedissequamente agli animali selvatici tecniche e principi messi a punto nei domestici. Pur introducendo concetti quali eradicazione, controllo, sorveglianza, l'obiettivo, anche nella fauna selvatica, è rappresentato esclusivamente dalla malattia/infezione senza considerare l'ecologia del rapporto ospite/parassita né la fattibilità e la congruità degli interventi.

L'approccio venatorio, basato principalmente su osservazioni empiriche, viene attuato astraendosi da concetti quali eradicazione e controllo, trascurando eventuali ripercussioni sanitarie e conservazionistiche ed intervenendo unicamente su specie cacciabili presenti ad elevata densità.

Entrambi gli approcci, sebbene a diversi livelli, sono volti a combattere le infezioni attraverso

l'identificazione ed eliminazione dei singoli soggetti ammalati o sospetti di esserlo.

Viene quindi abbattuto il camoscio affetto da cheratocongiuntivite infettiva per impedire che possa trasmetterla ulteriormente, così come viene incenerito il cinghiale positivo per la presenza di virus pestoso.

In sostanza l'attività di controllo viene rivolta, seppur indirettamente, verso l'agente eziologico ed i singoli soggetti vengono considerati come banali contenitori.

Nelle specie domestiche la facile identificazione dei singoli individui, la possibilità di sequestrare gli allevamenti in attesa delle risposte di laboratorio, la determinazione di zone infette nelle quali limitare la movimentazione di animali e di mezzi hanno reso possibile il successo dei piani di controllo/eradicazione. Una volta estesa ai selvatici, l'impostazione verso il singolo individuo è rimasta inalterata; tuttavia nelle popolazioni a vita libera non è possibile vincolare gli animali ad un'area infetta, effettuare controlli individuali né distruggere prontamente ogni animale infetto.

Nelle popolazioni domestiche allevate in modo intensivo molte delle caratteristiche legate all'ospite possono essere di fatto trascurate perché non condizionano il successo del controllo. In termini pratici la difficoltà di controllo delle medesime infezioni all'interno di popolazioni domestiche allo stato brado o semi-brado (molto più simili per certi aspetti alle popolazioni selvatiche) dimostra l'importanza di tali caratteristiche nella dinamica dell'infezione e, di conseguenza, nella reale possibilità di controllarla.

Una popolazione selvatica è infatti caratterizzata da (Begon *et al.*, 1989):

- ampi areali di distribuzione;
- densità difficilmente note;
- notevole sensibilità nei confronti dei fattori abiotici e biotici (clima, disponibilità trofiche, fenomeni di competizione e predazione, ecc) in grado di modificarne la consistenza (direttamente o indirettamente in funzione di fattori densità-dipendenti) ed il comportamento (modificazione dell'home range e dell'areale di distribuzione);
- rapporti intra ed interspecifici con altre popolazioni selvatiche o con popolazioni domestiche allo stato brado.

Tali fattori, in un contesto di infezione/controllo, concorrono a complicare la dinamica dell'infezione in sé e, di conseguenza, anche le attività di monitoraggio e management.

Il parziale vuoto legislativo che regola gli interventi di tipo sanitario nelle popolazioni a vita

libera dipende probabilmente dalla negazione delle specifiche peculiarità che caratterizzano il rapporto ospite-parassita da un lato e, dall'altro, dalla scarsa rilevanza che alcune infezioni assumono dal punto di vista della Sanità Pubblica.

Il ricorso al depopolamento in caso di infezione nelle popolazioni selvatiche è possibile, ma è prima necessario analizzare attentamente i fattori che consentono la persistenza di una infezione, acquisire conoscenze specifiche sulle caratteristiche intrinseche dell'agente eziologico (Beaglehole *et al.*, 1994), sulla popolazione ospite e sulle tecniche da adottare, stabilire a priori l'obiettivo da perseguire previa un'analisi critica del rapporto "costi-benefici". Il presente lavoro vuole quindi essere una disamina dei possibili effetti della riduzione numerica della popolazione ospite nel caso in cui non siano considerati importanti aspetti teorici, sanitari e conservazionistici.

## 2. Condizioni di persistenza o estinzione di infezioni sostenute da microparassiti

La riduzione della densità della popolazione ospite (depopolamento) si fonda sul principio che, aumentando il tempo di contatto tra animale infetto e recettivo, sia possibile modificare il rapporto tra numero di infetti e numero di recettivi rallentando o addirittura arrestando la trasmissione dell'infezione.

Poichè l'ingresso di un agente patogeno in una popolazione totalmente recettiva determina un progressivo aumento del numero di infetti e una contemporanea riduzione del numero di recettivi fino al momento in cui non esiste più un numero di recettivi sufficiente a garantire l'ulteriore trasmissione dell'infezione (Anderson & May, 1991), è evidente che il mantenimento della stessa dipende dal numero di individui recettivi.

L'evoluzione di qualsiasi infezione in termini di persistenza o estinzione dipende, in particolare, dalla dimensione iniziale della popolazione recettiva e dal reclutamento di nuovi individui recettivi nel corso dell'epidemia.

Tuttavia, in tale contesto, qualsiasi evento di tipo numerico (numero di infetti, recettivi, immuni) dovrebbe essere messo in relazione con il fattore tempo, inteso come principale elemento dinamico dell'evoluzione delle infezioni. Quest'ultimo va specialmente riferito a:

### 1) *Velocità di reclutamento di nuovi recettivi*

Intesa come velocità di comparsa di individui recettivi per nascita, perdita dell'immunità e immigrazione, è funzione, per quanto riguarda in particolare i nuovi nati, del tasso di fertilità della specie ospite, della durata della stagione

riproduttiva e del turn over, naturale o artificiale, cui la popolazione è sottoposta. Emblematico è il caso del cinghiale nel quale l'elevata fertilità, la lunga stagione riproduttiva (circa 8 mesi), il turn over indotto dalla pressione venatoria e di controllo, fanno sì che il pool dei recettivi venga continuamente rinnovato consentendo così la persistenza delle infezioni.

#### 2) *Durata dell'immunità*

Premesso che nelle infezioni sostenute da microparassiti la principale difesa dell'organismo ospite è rappresentata dall'immunità umorale (Nokes, 1992), il fatto che questa possa proteggere l'animale per tutta la vita o solo per un periodo di tempo limitato condiziona il mantenimento dell'infezione appena insorta e la dinamica di successive infezioni.

Un'immunità di breve durata, quale l'immunità materna o vaccinale, ad esempio, contribuisce largamente ad incrementare il pool dei recettivi facilitando la persistenza dell'infezione. Al contrario, una protezione che dura tutta la vita del soggetto guarito condurrà ad una progressiva diminuzione del numero di recettivi.

#### 3) *Periodo in cui insorgono i primi casi d'infezione rispetto al calendario biologico della specie ospite*

Indipendentemente dalla durata della stagione riproduttiva un'infezione avrà maggiori o minori probabilità di diffondersi e mantenersi all'interno della popolazione a seconda che insorga, rispettivamente, prima o dopo la stagione riproduttiva.

Se, ad esempio, un'infezione è caratterizzata da un'iniziale fase epidemica della durata di circa 6 mesi ed insorge in una popolazione di capriolo durante l'estate (ovvero dopo la stagione riproduttiva) si diffonderà in una popolazione di dimensioni costanti e potrà facilmente estinguersi prima della comparsa dei nuovi nati dell'anno successivo. Al contrario, se la stessa infezione insorge alla fine dell'inverno, avrà maggiori probabilità di mantenersi grazie ai nuovi nati di maggio-giugno.

#### 4) *Durata del periodo infettante*

Un individuo infetto viene considerato infettante per tutto l'arco di tempo in cui elimina l'agente eziologico garantendone la trasmissione (Anderson & May, 1991). Se, ad esempio, la durata del periodo infettante è molto breve (poche ore), i contatti con gli individui recettivi saranno possibili solo a densità elevate. Al contrario, se la capacità infettante si protrae per settimane o mesi le probabilità di trasmettere l'infezione saranno elevatissime anche in popolazioni molto disperse sul territorio.

#### 5) *Velocità di trasmissione dell'infezione all'inter-*

#### *no della popolazione ospite*

È intesa come velocità alla quale si formano nuovi individui infetti ed è funzione della capacità dell'agente eziologico di diffondersi più o meno rapidamente da ospite a ospite. Infezioni altamente diffusibili e contagiose (es. Peste suina classica, Afta epizootica) (Blood et al., 1983) colpiscono in breve tempo tutta la popolazione e la loro possibilità di persistere dipende dalla densità della popolazione recettiva.

Viceversa infezioni che necessitano di tempi di esposizione molto prolungati per potersi trasmettere (es. rogna del camoscio) riescono a permanere a lungo anche a densità molto basse. Tali concetti vengono generalmente espressi in termini maggiormente analitici utilizzando il concetto di numero riproduttivo di base ( $R_0$ ) (Anderson & May, 1991) e di densità soglia (Kermack & McKendrick, 1927; Anderson, 1991).

Il management delle infezioni diffusibili negli animali selvatici è infatti complicato dalla replicazione dell'agente eziologico all'interno dell'organismo ospite e dalla sua conseguente trasmissione ad altri individui recettivi in funzione delle diverse modalità di eliminazione (Wobeser, 1994).

La "riproduzione" o "successo di trasmissione" dell'agente eziologico è noto in epidemiologia come  $R_0$  e rappresenta il numero medio di infezioni secondarie conseguenti all'introduzione di un individuo infetto in una popolazione totalmente recettiva (Anderson & May, 1991). Quando l'introduzione di un individuo infetto genera in media 1 caso secondario ( $R_0=1$ ) l'infezione viene considerata endemica. Valori di  $R_0$  superiori o inferiori garantiscono, rispettivamente, il mantenimento o l'estinzione della stessa.

Poiché, in generale,  $R_0$  è direttamente proporzionale al numero di ospiti recettivi ( $R_0=N/N_T$ ;  $N$  rappresenta il totale della popolazione ospite ed  $N_T$  la densità soglia), la condizione di estinzione di un'infezione ( $R_0<1$ ) si verifica solo quando la densità della popolazione ospite scende al di sotto di un valore limite di individui ( $N<N_T$ ) tale per cui la distanza tra infetto e recettivo impedisce un'ulteriore trasmissione dell'infezione (concetto di densità soglia di estinzione dell'infezione). Se, ad esempio, un animale è infettante per 3 giorni, la densità soglia è quella densità di recettivi tale per cui l'infettante non incontra un recettivo prima di 3 giorni.

Il mancato raggiungimento della densità soglia esiterà semplicemente in un rallentamento della trasmissione dell'infezione (con diminu-

zione della prevalenza e dell'incidenza) senza mai condurre alla sua estinzione.

### 3. Il depopolamento come strumento sanitario dell'eradicazione e/o del controllo

In termini di management è possibile scegliere di eliminare completamente un'infezione dalla popolazione ospite e dall'ambiente (eradicazione) o ammettere la persistenza della stessa a livelli accettabili (controllo) (Ademollo e Boldrini, 1975; Webber, 1996). Il controllo numerico della popolazione ospite (depopolamento) rappresenta uno dei possibili strumenti sanitari utilizzabili per raggiungere questi due obiettivi.

In particolare viene definita eradicazione l'eliminazione totale di una infezione dagli ospiti e dall'ambiente, in tempi brevi, ovunque questa sia presente attuando un processo del tipo tutto o niente (Schnurrenberger *et al.*, 1987; Wobeser, 1994; Webber, 1996). Poichè ogni infezione ha propri e caratteristici tempi di eliminazione (la tubercolosi bovina richiede tempi più lunghi rispetto all'afra epizootica), è necessario valutare a priori la convenienza e la realizzabilità di un processo di eradicazione che necessariamente dovrà protrarsi a lungo nel tempo.

Nel caso in cui non sia necessaria la totale eliminazione dell'agente eziologico è possibile tentare di attenuare semplicemente gli effetti dell'infezione sulla dinamica della popolazione ospite. Il controllo consiste nella riduzione dell'incidenza e della prevalenza di una specifica infezione allo scopo di limitarne l'impatto a carico della popolazione colpita o nell'ambito dei focolai (Wobeser, 1994).

E' necessario sottolineare, tuttavia, che controllo ed eradicazione non sono espressione di un diverso grado di depopolamento (l'eradicazione non è il risultato di un controllo particolarmente intenso, né il controllo deriva dal fallimento dell'eradicazione), bensì rappresentano due tipi di management ben distinti nei concetti, negli scopi e nelle tecniche (Webber, 1996; Schnurrenberger *et al.*, 1987).

L'eradicazione deve avvenire in tempi brevi; la sorveglianza, ovvero la ricerca attiva dell'agente eziologico anche ottenuta l'eradicazione, deve essere accurata, intensa e protrarsi a lungo dopo l'ultimo caso d'infezione; i sistemi adottati prevedono verifiche a priori e a posteriori.

Il controllo, al contrario, può essere protratto a lungo, non prevede attività di prevenzione e sorveglianza nè una stringente valutazione dei risultati raggiunti.

Approssimandosi al livello di prevalenza prefis-

sato, le misure di controllo possono allentarsi; nell'ambito di un progetto di eradicazione, al contrario, quando i casi d'infezione diminuiscono o scendono al di sotto della soglia di rilevazione è necessario un investimento superiore per individuare l'infezione residua (Webber, 1996). L'esperienza dimostra che i primi dieci casi sono sempre più facilmente eliminabili degli ultimi dieci (Schnurrenberger *et al.*, 1987).

### 4. Quali infezioni eradicare e quali controllare nelle popolazioni selvatiche?

La normativa che regola gli aspetti zoonosanitari ed i metodi di profilassi delle malattie animali, nell'indicare quali debbano essere le infezioni da eradicare, fa soprattutto riferimento alla Lista A dell'O.I.E.

Sono comprese in questa lista le malattie trasmissibili che hanno la possibilità di diffondersi in modo grave indipendentemente dai confini nazionali, che determinano gravi conseguenze socio-economiche o sulla salute pubblica e che rivestono notevole importanza per il commercio internazionale di animali e loro prodotti (Office International des Epizooties, 1993). In caso di focolai sono previsti provvedimenti d'urgenza volti all'estinzione delle infezioni nel più breve tempo possibile, pena l'interdizione degli scambi commerciali con gli altri Stati membri dell'Unione Europea e non.

La lista comprende per la maggior parte malattie considerate esotiche per l'Italia, fatta eccezione per la PSC, la PSA e l'Afta epizootica. Quest'ultime sono le uniche infezioni soggette a piani di eradicazione (in Italia) anche nelle specie selvatiche (Afta epizootica - "animali delle specie sensibili: ogni ruminante o suino, domestico o selvatico, che si trovi in un'azienda"; biungulati selvatici (D.P.R. 1° marzo 1992, n.229 art.1);

Pesti suine - "suino selvatico: qualsiasi animale della famiglia dei suidi che non è allevato o tenuto in azienda" (D.P.R. 17 maggio 1996, n.363 art.1).

Il vuoto legislativo tuttavia sussiste, in quanto non vengono date indicazioni precise riguardo gli animali a vita libera, lasciando quindi supporre che a questi si debbano estendere i provvedimenti previsti per le specie domestiche (Afta epizootica) oppure, nel migliore dei casi (Peste suina classica), viene suggerita una generica "riduzione della popolazione dei suini selvatici a mezzo dell'attività venatoria" (D.P.R. 17 maggio 1996, n. 363 art. 10 comma 5 lettera e) o, nel caso della PSA, "il diradamento dei suini selvatici" (O.M. 6 febbraio 1997 art1 comma 4).

La normativa mette in particolare evidenza le restrizioni da applicarsi al commercio di animali e/o prodotti potenzialmente responsabili di diffondere le malattie in questione; non sembra considerare, tuttavia, il ruolo epidemiologico delle specie selvatiche, trascurando la possibilità che queste possano anche non mantenere le infezioni, ma solo segnalare la presenza sul territorio (es. afta nel capriolo).

I tentativi di eradicazione, ad esempio, dell'Afta epizootica e della brucellosi nel bovino tramite il depopolamento della popolazione di cervo (Wobeser, 1994; Moore & Schnurrenberger, 1981) sono risultati fallimentari perchè il cervo non è serbatoio bensì solo un epifenomeno.

Per quanto riguarda le malattie non contemplate dalla Lista A, ma ugualmente sottoposte a piani di eradicazione in Italia, la normativa si rivela essere estremamente vaga e, pur essendoci i riferimenti alle specie oggetto dei provvedimenti sanitari, mancano poi i testi legislativi che la legge stessa invita a seguire.

Casi esemplificativi sono rappresentati dalla tubercolosi e dalla brucellosi.

Tubercolosi bovina e bufalina - D.M.15 dicembre 1995, n. 592 art.16 comma 1 "nei casi in cui l'unità sanitaria competente per territorio ritiene che l'eventuale presenza di individui infetti di *altre specie* può compromettere l'esito dei programmi di eradicazione della tubercolosi, deve adottare nei confronti di ciascuna specie le misure previste dalle specifiche norme vigenti".

Brucellosi bovina - D.M.27 agosto 1994, n. 651 art. 20 comma 1 "[...] l'unità sanitaria competente per territorio dovrà adottare nei confronti di ciascuna specie le misure previste dalle specifiche norme vigenti, integrate, se necessario, dalle misure previste dal presente regolamento". Premesso questo, è possibile affermare che, indipendentemente dalla tecnica utilizzata, siano da eradicare le zoonosi e le infezioni comuni agli animali domestici soggette a denuncia obbligatoria e a specifici piani di eradicazione e che riconoscono i selvatici come possibile serbatoio epidemiologico.

Questo non significa che tutte le infezioni che rispondono a questi requisiti debbano essere obbligatoriamente eradicare (nulla è obbligatorio finché non sancito da una legge), ma che, nel momento in cui si opta per l'eradicazione, tali requisiti devono rappresentare una *conditio sine qua non*. In particolare è fondamentale per il successo dell'eradicazione che la specie selvatica rappresenti il principale serbatoio epidemiologico.

Per quanto riguarda invece l'attenuazione dell'impatto dell'infezione sulla popolazione ospite, dovrebbero essere sottoposte a controllo esclusivamente le infezioni non soggette a piani ufficiali di eradicazione, che riconoscono i selvatici come principale serbatoio e che colpiscono unicamente specie oggetto di attività venatoria.

### 5. Tecniche utilizzate nel depopolamento delle specie selvatiche a scopo sanitario

Qualora lo scopo del depopolamento sia l'eradicazione di una specifica infezione vengono abbattuti tutti gli animali (indipendentemente dal fatto che siano infetti o meno) fino al raggiungimento della densità soglia di estinzione (il numero di animali da abbattere deve essere pari a  $N_T+1$ ).

Il controllo delle infezioni viene effettuato tramite una riduzione della densità degli ospiti di tipo selettivo o di tipo globale (Wobeser, 1994).

La riduzione selettiva della densità dovrebbe consistere nell'abbattimento dei soli soggetti infettanti, ossia eliminatori dell'agente eziologico. La riduzione globale della densità dovrebbe invece essere attuata abbattendo indiscriminatamente gli animali sani, infetti e sospetti infetti.

In realtà quello che viene fatto, da un punto di vista pratico, non è né un controllo selettivo propriamente detto né un controllo globale. Si abbattano gli animali ritenuti infetti e quelli sospettati di esserlo (perchè spazialmente vicini agli infetti), senza tuttavia colpire gli animali sani ad eccezione di quelli abbattuti durante la normale attività venatoria. In altre parole la consueta attività venatoria rimane separata dall'attività sanitaria, integrando semplicemente il piano di abbattimento con i cosiddetti "tiri sanitari" o addirittura abbattendo gli animali infetti al di fuori del piano di abbattimento.

La condizione di infetto non viene giudicata utilizzando test diagnostici, bensì sulla base di sintomi clinici evidenti a distanza o di particolari comportamenti dell'animale che fanno sospettare una patologia. Si tratta quindi di una valutazione puramente visiva la cui accuratezza è compromessa dalla distanza alla quale viene effettuata, dalla preparazione culturale di chi la esegue e dalla soggettività intrinseca che la caratterizza. Una valutazione di questo tipo, inoltre, non consente di discriminare gli animali realmente infettanti da quelli che, pur presentando sintomi clinicamente evidenti, non sono più eliminatori dell'agente patogeno.

## 6. Quali conoscenze sono necessarie per programmare piani di eradicazione e di controllo?

Nella maggior parte dei casi il controllo numerico della popolazione ospite è stato fatto su base empirica, senza conoscere la densità della popolazione stessa o il grado di riduzione necessario per raggiungere l'effetto desiderato (Wobeser, 1994). Poichè tale atteggiamento ha spesso condotto all'insuccesso dell'attività di management, è necessario che ogni piano di eradicazione o controllo presupponga l'acquisizione a priori di specifiche conoscenze relative all'agente eziologico e alla specie ospite.

In particolare è importante avere precise nozioni riguardo a:

A) Ruolo epidemiologico della specie selvatica. Se la specie selvatica non rappresenta il serbatoio dell'infezione, bensì un epifenomeno (es. capriolo per brucellosi bovina) o un amplificatore (es. cinghiale per afta epizootica) (Hone & Pech, 1990) qualsiasi tentativo di eradicazione/controllo risulterà inefficace perchè non indirizzato verso la specie in grado di mantenere l'infezione.

Il problema riveste particolare importanza nel caso in cui il serbatoio sia rappresentato da una o più specie domestiche (o solo da queste) oppure da una specie selvatica non oggetto di attività venatoria (es. tasso per tubercolosi bovina) (White & Harris, 1995).

B) Prevalenza e incidenza dell'infezione.

La conoscenza di questi semplici parametri epidemiologici consente di sapere in quale fase si trova l'infezione, di ipotizzarne la possibile evoluzione, di calcolare la densità soglia, l'entità del controllo e, soprattutto, di valutare l'opportunità o meno dello stesso (quanto senso ha, ad esempio, controllare un'infezione con prevalenza pari al 5-10%?).

C) Caratteristiche intrinseche dell'agente eziologico (modalità e velocità di trasmissione, vie di eliminazione, durata ed entità dell'eliminazione, sopravvivenza in ambiente esterno, in ospiti intermedi o vettori).

La riduzione della densità della popolazione ospite risulta essere più efficace nei confronti delle infezioni che si trasmettono per contatto diretto piuttosto che verso quelle trasmesse, ad esempio, per via sessuale, attraverso vettori o l'ambiente (malattie telluriche) (Webber, 1996). Per lo stesso motivo la resistenza dell'agente patogeno all'esterno dell'ospite (ospiti intermedi, vettori, ambiente) può rappresentare un serio ostacolo al processo di eradicazione/controllo.

Infezioni caratterizzate da un lungo periodo

infettante e ridotta velocità di trasmissione persistono più facilmente all'interno della popolazione e, come tali, sono più difficilmente controllabili.

La rogna sarcopatica del camoscio, ad esempio, conduce a morte l'ospite dopo 2-3 mesi dall'avvenuto contatto con individui infetti, la durata dell'epidemia è di circa 3-4.5 anni con un fronte di avanzamento di 3-5 Km/anno (Rossi *et al.*, 1995). L'acaro responsabile di questa parassitosi non resiste in ambiente esterno più di 24-48 h (Burgess, 1994), ciononostante la lunga durata del periodo infettante consente all'infezione di persistere anche riducendo enormemente la densità degli ospiti.

D) Biologia dell'ospite (home-range, fenomeni di immigrazione-emigrazione, tasso intrinseco d'accrescimento, tasso di fertilità, tipo di riproduzione e durata della stagione riproduttiva, turn over).

Tutti gli elementi connessi con la biologia dell'ospite sono fondamentali per poter comprendere la dinamica dell'infezione, le possibilità di persistenza e la sua eventuale diffusione a zone limitrofe.

E) Dimensione e distribuzione dell'intera popolazione a rischio d'infezione

Conoscere dimensione e densità della popolazione ospite consente di calcolare correttamente la quota di animali da abbattere (Anderson *et al.*, 1981); nel caso particolare dell'eradicazione è necessario comprendere nel programma l'intera popolazione a rischio, superando i confini politici e tenendo conto piuttosto delle barriere naturali o artificiali.

F) Impatto dell'infezione sulla popolazione ospite (tipo di impatto, entità)

Si intende per impatto qualsiasi ripercussione che la presenza dell'infezione determina a livello di popolazione ospite. Un'infezione può ripercuotersi negativamente sulla dinamica di popolazione compromettendo semplicemente le condizioni di salute dell'ospite (macroparassiti, fasi iniziali di infezioni croniche da microparassiti, esempio paratubercolosi), riducendone le capacità riproduttive (malattie croniche da macroparassiti, tricomonomiosi nella lepre) o provocandone la morte.

L'esigenza di un controllo viene normalmente avvertita in quest'ultimo caso, ovvero quando gli animali morti per malattia assumono proporzioni tali da allarmare non solo gli operatori del settore, ma anche l'opinione pubblica.

L'epidemia di rogna sarcopatica verificatasi in Spagna (Sierra di Cazorla) nel 1995 ha sterminato nell'arco di 3 anni la popolazione residente

di stambecco spagnolo (*Capra pyrenaica*) riducendola a 250 capi rispetto ad una popolazione originaria di 10.000 capi (León-Vizcaíno, 1990). Conoscere l'esatta entità dell'impatto impedisce di incorrere in errori di sovrastima quando si tenta di valutare l'impatto a priori sulla base degli animali ritenuti infetti. Non è sempre vero, infatti, che tutti gli animali infetti moriranno, quindi, non considerando la quota di animali che possono guarire, si rischia di programmare uno sforzo di controllo eccessivo rispetto al reale impatto. In questo caso la mortalità da controllo non è più sostitutiva, bensì aggiuntiva rispetto alla letalità (mortalità negli infetti) e si hanno più morti di quelli che ne avrebbe causato la malattia.

In caso di epidemia da cheratocongiuntivite nel camoscio la percentuale di animali infetti (prevalenza) è pari circa all'80-100%, di questi il 70% sviluppa un'immunità che, oltre a proteggerli dall'infezione in atto, li preserva da possibili reinfezioni. Un controllo calcolato esclusivamente sulla prevalenza fa sì che i camosci morti per cheratocongiuntivite non siano solo un 30% bensì il 50-70%.

G) Percentuale di individui recettivi, immuni e infetti.

L'evoluzione di una infezione sostenuta da microparassiti dipende strettamente dal rapporto che si instaura tra la percentuale di individui recettivi, infetti ed immuni; è quindi inevitabile che una riduzione della densità, globale o selettiva, conduca ad una modificazione di tali rapporti e a conseguenze spesso imprevedibili.

Gli individui recettivi rappresentano, come detto sopra, l'elemento indispensabile per il mantenimento di una infezione. Il loro numero dipende dal tasso di fertilità dell'ospite, dal turn over causato dalla pressione venatoria, da fenomeni di immigrazione spontanea o indotta dalla presenza di aree sottopopolate, dal tempo di scomparsa degli anticorpi protettivi.

Gli individui infetti sono l'elemento scatenante per il verificarsi di una epidemia, ma contemporaneamente rappresentano l'ostacolo ad una sua ulteriore diffusione nella percentuale in cui diventano immuni o muoiono.

Per questi motivi è importante conoscere:

- tipo di immunità indotta dall'agente eziologico;
- durata dell'immunità;
- percentuale di animali che riesce ad immunizzarsi;
- fase dell'infezione (epidemia in popolazione precedentemente indenne, epidemia in popolazione già venuta a contatto con l'agente eziologico, endemia);

- stato della popolazione precedente la fase epidemica che si vuole controllare.

## 7. Effetti di un programma finalizzato al controllo

In generale le conseguenze dell'abbattimento degli animali immuni o degli infetti che guariranno sono:

- riduzione della quota di immuni già esistente;
- riduzione del numero di nuovi immuni (come conseguenza dell'eliminazione degli infetti);
- aumento della quota di recettivi in seguito al turn over.

Tutto ciò si traduce a breve termine in una facilitazione alla permanenza e diffusione dell'infezione anziché in un suo rallentamento e, nel lungo periodo, nell'instaurarsi di una situazione favorevole all'insorgenza di nuove epidemie (popolazione quasi totalmente recettiva). Più in particolare gli effetti del controllo saranno diversi in relazione alla fase dell'infezione.

### Caso 1

Controllo di una epidemia insorta in una popolazione totalmente recettiva.

Se si interviene all'inizio dell'epidemia o in coincidenza del picco le categorie più rappresentate sono quelle dei recettivi e degli infetti; un controllo globale consente, in questo caso, di rallentare effettivamente la diffusione dell'infezione.

Al contrario, l'intervento effettuato dopo il picco epidemico troverà una popolazione costituita prevalentemente da infetti, immuni e pochi recettivi, ovvero una situazione avviata già di per sé alla risoluzione. Un controllo globale tenderà a rallentare l'estinzione dell'infezione (endemizzazione) e ad accelerarne la diffusione.

### Caso 2

Controllo di una epidemia insorta in una popolazione venuta precedentemente in contatto con l'agente eziologico.

La popolazione è costituita fin dall'inizio non solo da recettivi ed infetti, ma anche da individui immuni. L'effetto di un controllo globale è simile a quello che si ottiene intervenendo in una popolazione indenne dopo il picco epidemico, con la differenza che, abbattendo gli animali infetti, si riducono le possibilità che questi possano esercitare un effetto booster sugli immuni e aumentare così le loro difese.

### Caso 3

Controllo di una infezione in fase endemica.

La condizione di endemia, di per sé, presuppone l'esistenza di pochi casi di malattia prevedibili nel tempo. Un intervento di controllo del-

l'infezione in questa fase difficilmente modifica la situazione esistente in termini di prevalenza, conducendo piuttosto ad un aumento della diffusione spaziale dell'infezione.

Anche se, apparentemente, il controllo più efficace è quello effettuato in una popolazione precedentemente indenne all'inizio della fase epidemica, raramente si è intervenuti così tempestivamente. Questo è dovuto principalmente all'impossibilità di individuare in tempo reale la presenza dell'infezione. Nel caso, ad esempio, della rabbia silvestre, la difficoltà nel reperimento di volpi rabide comporta un ritardo di 3-4 mesi nell'individuazione dell'epidemia; nel frattempo si saranno già infettate circa 45 volpi e l'epidemia sarà avanzata di 9-32 Km (Bacon, 1981). Allo stesso modo il rilevamento del primo suino morto per Peste suina classica (in allevamento) non avviene prima di 30 giorni; se si considera che prima dell'allestimento del sequestro e delle varie misure di protezione e sorveglianza un certo numero di animali infetti sarà uscito dall'allevamento, emerge chiaramente l'impossibilità di limitare l'infezione all'allevamento di prima insorgenza.

In ogni caso, ammesso che si riesca ad intervenire al momento giusto, la mortalità viene ripartita tra abbattimenti e letalità; si evidenzia una diminuzione, nel tempo, degli animali morti a causa dell'infezione cui corrisponde un incremento degli animali morti in seguito al controllo. Il risultato è un controllo dell'infezione, non della mortalità in senso lato.

Inoltre, poichè il rallentamento della trasmissione dell'infezione, obiettivo principale del controllo, viene contrastato da una forza uguale e contraria rappresentata dall'incremento dei recettivi (aumentato turn over) e dall'eliminazione degli immuni, la velocità con cui l'infezione continua a diffondersi rimane pressochè inalterata con la differenza che la popolazione è complessivamente più piccola. In una popolazione, ad esempio, costituita da 1000 individui, un'infezione con letalità pari al 20% ne conduce a morte 200, se la popolazione viene ridotta a 500 individui gli animali morti a causa dell'infezione sono solo 100 e quindi la percezione della mortalità risulta minore.

Un'ulteriore complicazione dell'attività di controllo consiste nella creazione di aree a diversa densità.

Nella zona in cui viene effettuato il controllo la densità risulta essere bassa e la popolazione viene a trovarsi molto al di sotto della capacità portante dell'habitat. Al contrario, le zone limitrofe sono caratterizzate da densità relativa-

mente più elevate. In assenza di barriere è estremamente probabile che si creino dei flussi di animali nelle due direzioni. Vi sarà in particolare un flusso di animali sani e infetti verso le zone indenni come conseguenza del disturbo causato dall'attività di controllo ed un flusso contrario di animali sani diretti verso la zona a minor densità. La creazione di aree sottopopolate con abbondanti disponibilità trofiche si traduce, in termini ecologici, in fenomeni di immigrazione "eterospecifici" e, in termini epidemiologici, in una accelerazione della diffusione dell'infezione (nella zona oggetto di controllo) per aumento del pool dei recettivi. Parallelamente la diffusione spaziale dell'infezione comporta l'insorgenza di nuovi focolai in fase epidemica nelle zone confinanti.

Indipendentemente dal fatto che la popolazione sia indenne o abbia memoria di precedenti contatti con l'agente eziologico, un controllo di tipo globale è comunque preferibile a quello selettivo. Quest'ultimo infatti, non prevedendo l'abbattimento degli animali sani (recettivi ed immuni), non rispetta il principio dell'allungamento del tempo di contatto, almeno non in tempi ragionevolmente brevi, ma soprattutto non incide sulla categoria di animali maggiormente responsabili del mantenimento dell'infezione (recettivi). Inoltre, se non si hanno conoscenze precise sul momento in cui avviene l'eliminazione dell'agente eziologico (incubazione, malattia, guarigione) si corre il rischio di abbattere animali non più eliminatori e che quindi non rappresentano più un pericolo da un punto di vista epidemiologico (esempio) o di lasciare sul territorio animali fortemente infettanti (paratubercolosi e adulti portatori subclinici).

## 8. Effetti di un programma finalizzato all'eradicazione

Se l'obiettivo del programma di depopolamento viene raggiunto (eliminazione dell'agente eziologico dagli ospiti e dall'ambiente per raggiungimento della densità soglia), si ottiene indubbiamente l'eradicazione. Tale evenienza, tuttavia, non si è verificata quando si è tentato di eradicare un'infezione da una popolazione selvatica utilizzando il depopolamento come strumento sanitario. Paradigmatico è il fallimento dell'eradicazione della rabbia silvestre in Europa attraverso il sistematico abbattimento delle volpi presenti sul territorio (Aubert, 1992) o della tubercolosi bovina nel tasso e nell'opossum rispettivamente in Gran Bretagna (White & Harris, 1995; Henderson, 1982; Swin-

ton *et al.*, 1997) e Nuova Zelanda (Roberts, 1996). I motivi di tale insuccesso vanno ricercati in:

- difficoltà di abbattimento di un numero di animali sufficiente a raggiungere la densità soglia;
- caratteristiche biologiche, sociali e comportamentali della specie ospite (Wachendörfer & Frost, 1992);
- fenomeni di emigrazione ed immigrazione;
- difficoltà nel coordinamento spazio-temporale degli abbattimenti.

Il mancato raggiungimento in tempi brevi della densità soglia ha condotto alla diffusione spaziale dell'infezione come effetto, da una parte, del disturbo e, dall'altra, della creazione di zone biologicamente vuote. Il diffondersi dell'infezione ha determinato la comparsa di nuovi focolai in zone non prevedibili, impegnando lo sforzo di eradicazione contemporaneamente su più fronti.

La fallita eradicazione si è tradotta, in breve, in un controllo, o meglio nella trasformazione dell'epidemia in endemia limitatamente alle zone dove era stata intrapresa l'eradicazione e nella contemporanea creazione di focolai in fase epidemica nelle zone, originariamente indenni, nelle quali l'infezione si era diffusa successivamente.

L'impossibilità, storicamente dimostrata (Macdonald, 1980; Wobeser, 1994), di ottenere l'eradicazione di una infezione attraverso la riduzione numerica della popolazione ospite va anche attribuita al rapporto esistente tra trasmissione dell'infezione e intervento esterno. In particolare, per le infezioni caratterizzate da  $R_0$  elevato, esiste un equilibrio instabile tra la velocità di diffusione dell'agente patogeno all'interno della popolazione recettiva e la velocità con cui si riescono ad effettuare gli abbattimenti; l'infezione si diffonde a zone indenni prima di essere riusciti ad eradicarla nella zona di insorgenza.

Nel caso di infezioni caratterizzate da basso  $R_0$  non è importante la velocità di intervento quanto piuttosto il fatto che il valore soglia sia estremamente basso (e quindi difficilmente raggiungibile) (Anderson & May, 1991) e spesso coincidente con l'estinzione locale dell'ospite (es. paratuberculosis nel cervo; rogna nel camoscio).

### 9. Considerazioni finali

Nel momento in cui si decide di eradicare o controllare un'infezione che colpisce gli animali selvatici non è possibile trasferire pedissequamente le metodologie normalmente applicate

nei domestici. L'intervento sulla densità della popolazione ospite è valido dal punto di vista teorico, ma difficilmente può essere realizzato sul campo.

Un corretto management necessita comunque della conoscenza di dati oggettivi derivanti dallo studio approfondito di ogni specifica situazione, evitando generalizzazioni poco realistiche e spesso controproducenti.

Da un punto di vista gestionale l'unico vantaggio oggettivamente è il mantenimento dell'attività venatoria. Tuttavia la popolazione ospite rimane molto al di sotto della capacità portante dell'habitat, fatto che si traduce, nel medio termine, in una netta riduzione della quota di animali cacciabili. Inoltre, nel caso in cui la soglia di estinzione dell'infezione sia particolarmente bassa o sia necessario un imponente sforzo d'abbattimento per rallentare la trasmissione dell'infezione, è possibile che la popolazione ospite vada incontro a fenomeni di estinzione, eventualità allarmante nel caso si tratti di specie minacciate.

È importante sottolineare, infine, che il controllo numerico non è assolutamente identificabile con la normale attività venatoria, poiché presuppone uno sforzo notevolmente più intenso, prolungato nel tempo e mirato.

Da un punto di vista sanitario, il controllo tende all'endemizzazione dell'infezione aumentando le probabilità che questa si possa diffondere spazialmente (riproponendo il problema in altre zone) e ad altre specie simpatriche (riproponendo il problema in altre specie).

L'ingente riduzione della densità degli ospiti, conseguente agli abbattimenti, aumenterà il turn over della popolazione innalzando la quota di animali recettivi; poiché a questo si accompagna anche l'eliminazione degli individui immuni o che guariranno, è evidente che, nel tentativo di rallentare la trasmissione dell'infezione, si favorirà invece l'instaurarsi di una situazione favorevole alla trasmissione della stessa.

Nel caso di infezioni per le quali esiste una resistenza di tipo individuale (Pence *et al.*, 1983), l'abbattimento degli animali resistenti impedirà il selezionarsi di una futura popolazione resistente.

Se lo scopo del management è l'eradicazione, ovvero il raggiungimento della densità soglia di estinzione, è dimostrato che questa può essere ottenuta non solo attraverso gli abbattimenti, ma anche, e soprattutto, con l'immunità di popolazione (naturale o vaccinale).

In qualsiasi caso e a prescindere dagli scopi, un

management di questo tipo (controllo numerico) interferisce pesantemente con la naturale evoluzione del rapporto ospite-parassita, con importanti ripercussioni ecologiche se si tratta, in particolare, di aree protette.

E' possibile affermare, per concludere, che in alcuni casi particolari le ripercussioni dell'infezione a livello di dinamica di popolazione possono essere limitate ricorrendo non al controllo numerico, bensì alla sospensione temporanea dell'attività venatoria.

## Bibliografia

- ADEMOLLO A. & BOLDRINI G. (1975) - *Controllo delle malattie trasmissibili degli animali*. Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche, La Nuova Cartografica, Brescia.
- ANDERSON R. M., JACKSON H.C., MAY R. M. & SMITH A. M. (1981) - Population dynamics of fox rabies in Europe. *Nature*, 289: 765-770.
- ANDERSON R.M. & MAY R.M. (1991) - *Infectious diseases of humans. Dynamics and Control*. Oxford Science Publications, Oxford.
- ANDERSON R.M. (1991) - Discussion: the Kermack-McKendrick epidemic threshold theorem. *Bull. Math. Biol.*, 53: 3-32.
- AUBERT M. (1992) - Epidemiology of fox rabies. In: Bogel K., Meslin F. X. & Kaplan M.(Eds.) *Wildlife rabies control*. Wells Medical Ltd, Kent.
- BACON P.J. (1981) - The consequences of unreported fox rabies. *J. Environ. Manage.*, 13:195.
- BEAGLEHOLE R., BONITA R. & KJELLSTROM T. (1994) - *Basic epidemiology*. World Health Organization, Geneva.
- BEGON M., HARPER J.L. & TOWNSEND C.R. (1989) - *Ecologia. Individui, popolazioni, comunità*. Zanichelli, Bologna.
- BENAZZI P. (1994) - *Il regolamento di polizia veterinaria Approvato con D.P.R. 8-2-1954 N. 320. Annotato, integrato ed aggiornato al 12-1-1994*. Società editrice Esculapio, Bologna.
- BENAZZI P. (1997) - *Il regolamento di polizia veterinaria Approvato con D.P.R. 8-2-1954 N. 320. Aggiornamento al 31-7-1997*. Società editrice Esculapio, Bologna.
- BLOOD D.C., RADOSTITS O.M.. & HENDERSON J.A. (1983) - *Veterinary Medicine*. Baillière Tindall, London.
- BURGESS I. (1994) - *Sarcoptes scabiei* and Scabies. *Adv. Parasit.*, 33: 235-292.
- FERNÁNDEZ-MORÁN J., GÓMEZ S., BALLESTEROS F., QUIRÓS P., BENITO J.L., FELIU C. & NIETO J. M. (1997) - Epizootiology of sarcoptic mange in a population of cantabrian chamois (*Rupicapra pyrenaica parva*) in Northwestern Spain. *Vet. Paras.*, 73: 163-171.
- HENDERSON W. M. (1982) - The control of disease in wildlife when a threat to man and farm livestock. In: Edwards M. A. & McDonnell U. (ed.) *Animal disease in relation to animal conservation. Symp. zool. Soc. Lond.*, 50: 287-297.

- HONE J. & PECH R. (1990) - Disease surveillance in wildlife with emphasis on detecting foot and mouth disease in feral pigs. *J. Environ. Manage.*, 31: 173-183.
- KERMACK W. O. & MCKENDRICK A.G. (1927) - A contribution to the mathematical theory of epidemics. *Proc. R. Soc., A*, 115: 700-721.
- KREBS J. R., ANDERSON R. M., CLUTTON-BROCK T., DONNELLY C. A., FROST S., MORRISON W. I., WOODROFFE R. & YOUNG D. (1998) - Badgers and bovine TB: conflicts between conservation and health. *Science*, 279: 817-818.
- LEÓN-VIZCAÍNO L. (1990) - Patología de la sarna de la cabra montés en Cazorla. *Quercus*, 50:22.
- MACDONALD D.W., 1980 - *Rabies and wildlife a biologist's perspective*. Oxford University Press, Oxford.
- MOORE C.G. & SCHNURRENBERGER P.R. (1981) - A review of naturally occurring *Brucella abortus* infections in wild animals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 179: 1105-1112.
- NOKES J. D. (1992) - Microparasites: viruses and bacteria. pp: 349-374. In: Crawley M.J. (ed.) *Natural Enemies*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- OFFICE INTERNATIONALE DES ÉPIZOOTIES (1993) - *Santé animale mondiale. Rapports sur la situation zoo-sanitaire et les méthodes de prophylaxie des maladies animales et Foyers de maladies de la Liste A - Statistiques. Tome 1*. Office International des épi-zooties, Paris.
- PENCE D. B., WINDEBERG L.A, PENCE B.C. & SPROWLS P. (1983) - The epizootiology and pathology of sarcoptic mange in coyotes, *Canis latrans*, from South Texas. *J. Parasit.*, 69: 1100-1115.
- ROBERTS M. G. (1996) - The dynamics of bovine tuberculosis in possum population and its eradication or control by culling or vaccination. *J. Anim. Ecol.*, 65: 451-464.
- ROSSI L., MENEGUZ P. G., DE MARTIN P. & RODOLFI M. (1995) - The epizootiology of sarcoptic mange in chamois, *Rupicapra rupicapra*, from the Italian Eastern Alps. *Parassitologia*, 37: 233-240.
- SCHNURRENBERGER P. R., SHARMAN R. S. & WISE G. H. (1987) - Attacking animal diseases. *Concepts and strategies for control and eradication*. Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- SWINTON J., TUYTTENS F., MACDONALD D., NOKES D.J., CHEESEMAN C. L. & CLIFTON-HADLEY R. (1997) - A comparison of fertility control and lethal control of bovine tuberculosis in badger: the impact of perturbation induced transmission. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 352: 619-631.
- WACHENDÖRFER G. & FROST J.W. (1992) - Epidemiology of red fox rabies: a review. In: Bogel K., Meslin F. X. & Kaplan M.(ed.) *Wildlife rabies control*. Wells Medical Ltd, Kent.
- WEBBER R. (1996) - *Communicable disease epidemiology and control*. Cambridge University Press, Cambridge.
- WHITE P.C.L. & HARRIS S. (1995) - Bovine tuberculosis in badger (*Meles meles*) populations in southwest England: an assessment of past, present and possible future control strategies using simulation modelling. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 349: 415-432.
- WOBESER G. A. (1994) - *Investigation and management of disease in wild animals*. Plenum Press, New York.

# DISEASE MANAGEMENT IN WILDLIFE

Wobeser G.

Canadian Cooperative Wildlife Health Centre, Department of Veterinary Pathology, Western College of Veterinary Medicine, University of Saskatchewan, Saskatoon, Saskatchewan, Canada S7N 5B4

**Abstract** - Management of disease in wild animals may be done because the disease is having a negative effect on a valued species, because the disease is a risk to humans or domestic animals, or because there is public pressure to "do something" about a perceived problem. Management may take four general directions: a decision might be made not to intervene, in which case the disease will continue; or intervention could be directed at preventing disease occurrence, reducing the frequency or impact of the disease, or complete eradication of an existing condition. Within these general directions, effort might be directed at attacking the disease agent, altering the environment, manipulating the host population, or changing human activities. Most programs involve some combination of techniques that includes public education. Disease management requires input from many disciplines; the system used in Canada to link veterinary and wildlife management expertise through the Canadian Cooperative Wildlife Health Centre is described.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 85-88

This paper is intended to give an overview of general methods that might be used to manage or manipulate disease in wild animals. Examples will include infectious and non-infectious diseases, with emphasis on conditions that occur in North America. Discussion of examples will necessarily be brief.

There are four basic reasons why one might attempt to manage disease in a wild species:

i. because the disease is having a serious negative effect on a valuable wild species.

For instance, managers in North America have been attempting to manage wild mountain sheep *Ovis canadensis* for many years, to reduce serious losses from pneumonia that have devastated some populations. Similarly, management of disease, particularly canine distemper and plague, have become an important component of the recovery plan for the endangered black-footed ferret *Mustela nigripes*. Management for canine distemper is necessary because ferrets are very susceptible to this disease, and for plague because prairie dogs *Cynomys* spp., the principal prey of ferrets, may be wiped out over large areas by plague.

ii. Because disease in wild animals is a risk to human health.

Two important diseases of this type in North America are rabies, carried by a number of different carnivores, and the hantaviruses carried by some wild rodents that cause Hantavirus Pulmonary Syndrome, a severe form of pneumonia in humans.

iii. Because disease in wild animals is a risk to domestic animals.

An example of this type of problem in North America is the occurrence of both *Mycobacterium bovis* and *Brucella abortus* infection in wild bison *Bison bison* in and around Wood Buffalo National Park in northern Canada. The occurrence of these diseases in bison is important, because both diseases have been eradicated from cattle throughout Canada after a decades long, expensive struggle. The bison now represent a potential reservoir of infection for other herds of disease-free bison, cattle and humans.

iv. Because there is public pressure to "do something" about a disease in wildlife.

A current example of this type in North America is pressure, primarily from organized hunting groups, to manage avian botulism in wild waterfowl. Botulism kills many ducks each year in western Canada and the USA, but the actual impact of the disease on duck populations is unknown, so it is unclear that management is required. At present, management consists of collecting and disposing of dead birds during outbreaks. Large amounts of money are spent each year on this "carcass cleanup" but, while it meets the objective of "doing something", there is no firm evidence that removal of carcasses reduces losses or has any population effect.

If disease management is contemplated, there are four basic strategies that might be considered:

1. **"Do nothing"**. Deciding not to pursue active management of a disease should be a conscious decision, reached after reviewing the reasons for possible management and the probability of success of different methods. A deci-

sion to do nothing, *i.e.*, not to interfere, is appropriate in many situations. However, if nothing is done it must be recognized that the disease will likely continue to occur.

**2. Prevention.** The most obvious examples of prevention are situations in which measures are taken to prevent a disease from gaining entry into an area. For example, a nematode *Parelaphostrongylus tenuis*, the "meningeal worm" of white-tailed deer *Odocoileus virginianus*, is very common in deer in eastern North America but is not present in western regions. The parasite does not harm white-tailed deer, but causes fatal neurologic disease in other cervids, including moose *Alces alces*, wapiti *Cervus elaphus*, mule deer *O. hemionus* and caribou *Rangifer tarandus*, as well as mountain sheep. All of these species would be at risk if the parasite were to become established in western Canada. The most likely method by which this parasite would move westward is through translocation of infected deer. To prevent this, provinces in western Canada prohibit importation of deer from areas where the parasite occurs.

Unfortunately, many diseases of wild animals have been translocated around the world because of inadequate preventive measures. For example, the liver fluke *Fascioloides magna* was introduced to Europe with wapiti from North America, and nematodes of the genus *Elaphostrongylus* were introduced from Europe to New Zealand with red deer, and to Newfoundland with reindeer. Despite better testing methods, and greater awareness of the potential problems, many translocations of wildlife continue to occur without any consideration of the likelihood of introducing new disease agents. Some such parasite introductions have occurred despite rigorous testing of individual animals and treatment with drugs.

The opposite side of this problem also may occur when susceptible animals are introduced into an area where a disease is already present. Caribou are very susceptible to *Protostrongylus tenuis*, but a few years ago caribou were translocated from Newfoundland (where *P. tenuis* does not occur) to Maine (where the parasite is enzootic in white-tailed deer). Predictably, the introduction failed and at least some of the introduced caribou died of *P. tenuis* infection.

**3. Control.** The objective in a disease control program usually is to reduce the frequency of occurrence or the severity of a disease to a tolerable or acceptable level, rather than to eliminate the disease entirely. Insecticides kill many

wild birds but, because insecticides are so important for crop production throughout the world, it is not feasible to stop all insecticide use or to eliminate poisoning completely. Control programs aimed at this problem are directed toward reducing use of insecticides where possible, development of less toxic and less persistent insecticides, and education of those who use insecticides, so that the chemicals are used in ways that reduce the risk to birds.

**4. Eradication or complete elimination of a disease.** Very few diseases of wild animals have been eradicated, even on a local level. One successful program, that involved killing thousands of deer, may have led to the elimination of foot-and-mouth disease from deer in California during the early 1920's. The current program in North America and elsewhere to prohibit the use of lead shot for waterfowl hunting, and the use of lead sinkers for fishing, is an attempt to eradicate lead poisoning of waterbirds. (The assumption is that when use of lead for these purposes ceases, lead pellets currently in wetlands will become buried and unavailable to birds). A similar ban on the use of mercurial compounds for treating seed grains eliminated a problem of mercury poisoning of terrestrial seed-eating birds in Sweden.

Within these basic strategies, a disease may be attacked by dealing with the causative agent or factor, by altering the environment, by manipulating the host population, or by changing some aspect of human activities that will influence the disease.

The most obvious way to manage a disease is by dealing directly with the causative agent. In the case of infectious disease, the agent might be attacked either within the host animal (for example by antibiotic treatment) or when it is outside the host animal. Dealing with disease agents within the host is a standard method in both human and domestic animal medicine. There is no reason to think that treatments, such as antibiotics or anthelmintics, would be less successful in individual wild animals than in domestic animals; however, there are great difficulties in delivering drugs to free-ranging animals. Treatment with anthelmintics has been used on a limited basis to reduce transplacental transmission of *Protostrongylus* spp. lungworms in wild mountain sheep. This resulted in better lamb survival, but it did not address the underlying problem of high sheep density on overcrowded range. Similarly, we have used acaricides to treat heavy infestations of ticks on nestling falcons on a very limited basis. In

general, it appears that treatment may be suitable for individual animals, or small groups under unusual circumstances, but treating individuals has very limited usefulness as a measure for dealing with disease in wild populations.

Another method is to prevent or reduce exposure of animals to the disease agent. In North America, outbreaks of avian cholera and avian botulism in waterfowl are often managed by disposal of the carcasses of dead birds. In the case of avian cholera, the objective is to remove carcasses as a source of *Pasteurella multocida*, and in botulism the goal is to remove carcasses that act as substrate within which *Clostridium botulinum* may toxin. While this type of management seems appropriate intuitively, there is no evidence that carcass collection alters the course of either disease or reduces mortality. Preliminary studies in botulism outbreaks suggest that only a small proportion of the carcasses present are actually removed during these carcass collections. Use of disinfectants or other chemicals to destroy disease agents in the environment has received little attention in wild animals, and is probably of very limited usefulness, except in very local situations.

The most promising area for disease management in wild animals is through environmental alteration to reduce exposure of animals to disease agents. The goal of such manipulation might be to change the distribution of the disease agent, or the host, or to alter the environment in some way that reduces contact or transmission. A simple example of such environmental manipulation is alteration of the design of electrical transmission lines to prevent large birds, such as eagles and vultures, from becoming electrocuted. Similarly, transmission lines can be located away from known bird flight paths, to reduce the number of deaths from collisions by large birds such as swans. An environment can also be altered to reduce exposure of animals to an infectious agent. On Isle Blanche, an island in the Saint Lawrence River in eastern Canada, nesting common eiders *Somateria mollissima* died of avian cholera in most years. We found that water in shallow pools, under dense vegetation on the island, contained large numbers of the causative bacterium *Pasteurella multocida*. Birds were exposed repeatedly to bacteria as they walked through the pools going to and from their nests. Clearing the dense vegetation and drainage of the standing water has reduced the occurrence of avian cholera on this island. Unfortunately, using environmental manipu-

lation to manage a disease requires detailed knowledge of the ecology of the disease; something that is often missing for disease conditions in wild animals.

Disease may be managed by manipulating the host population. The objective may be to reduce exposure of animals to a disease agent, to reduce host density and disease transmission, or to increase the resistance of the host population. One direct method of manipulating the host population is to move animals away from a source of disease. During an outbreak of avian cholera among ducks on a large saline lake, we found that mortality was concentrated where small freshwater streams entered the lake, and that the water at these sites contained many *P. multocida*. Birds were discouraged from using these areas by propane exploding noise makers. (Attempts to move wild animals often fail because of intense loyalty to the area, and rapid habituation by the animals to devices used to scare them away). Attempts to control disease in wild animals by reducing population density over large areas have generally been unsuccessful, because of the inability to achieve or maintain sufficient population reduction over time. Population reduction has occasionally been successful in preventing the movement of a disease, but this has depended on a large sustained effort in a relatively small area. Rabies among striped skunks *Mephitis mephitis* swept steadily westward across the Canadian prairies during the 1950's and 1960's, reaching the border of province of Alberta by about 1970. The disease has been prevented from spreading into Alberta by rigorous skunk depopulation within a 30 km band along the border. Occasional cases of rabies that do occur beyond this zone are dealt with by skunk depopulation in a circular zone around the case.

Another way of altering the host population is to increase the level of resistance to disease within the population. This is done most directly through immunization. Early attempts at immunization were often unsuccessful, primarily because of difficulty in delivering vaccine to the animals. For instance, when anthrax occurred in wild bison in northern Canada about 30 years ago, an attempt was made over several years to collect and vaccinate the animals to reduce losses. However, immunization had no significant effect, because only a small proportion of the herd could be captured for immunization at any time, and the vaccine induced only short-term immunity. In contrast, oral vaccination pro-

grams have been highly successful in reducing the occurrence of rabies among foxes in both Europe and Canada, but these have required massive effort to deliver vaccine to the animals. It is not clear that this type of massive effort can be sustained when the disease becomes very rare and attracts little public concern.

Almost every attempt to manage a disease in wild animals involves changing human activities in some way. I have alluded to several examples earlier, including altering how and where electrical transmission lines are constructed, changing how people hunt and fish to reduce lead poisoning of birds, and changing the way that farmers use insecticides to reduce poisoning of birds. Education is an important part of many disease management programs. Brucellosis, caused by *Brucella suis* biovar 4, is a relatively common infection in wild caribou in northern Canada and is also a serious zoonotic disease. Caribou are very important in the diet and culture of Inuit people. The disease can not be controlled in free-ranging caribou, so management has been directed toward educating the people, so that they can continue to utilize caribou but recognize and avoid exposure to infected animals. Another example, of the use of education for disease management, is training field staff and biologists in proper methods for capturing and handling wild animals to reduce the occurrence of capture myopathy. Most successful disease management plans have included some form of public education.

An essential component of any attempt to manage a disease must be a system for measuring the effectiveness of the management. The goal should be adaptive management, in which useful

portions of the plan are continued and expanded, and the unsuccessful aspects are terminated. Very few disease management techniques in wildlife have been assessed critically. The actual value of common practices, such as limited population reduction and carcass sanitation, in changing the outcome of disease are unknown.

Disease management requires input from specialists in many disciplines. In Canada, veterinary medical expertise has been linked with wildlife management expertise through formation of the Canadian Cooperative Wildlife Health Centre (CCWHC) in 1992. This is a partnership among Canada's four veterinary colleges that is supported financially by Environment Canada, the wildlife resource departments of all provinces and territories, and other organizations including Ducks Unlimited Canada, and the Canadian Wildlife Federation. The CCWHC is actively involved in disease surveillance, with each veterinary college providing disease diagnostic service to a region of Canada, as well providing consultation and training on wildlife disease issues. The CCWHC maintains a national data base of wildlife health problems in Canada that is available to its supporters, and publishes a newsletter describing current wildlife health concerns. The CCWHC is not a research organization but it assists supporting agencies with disease investigation, and wildlife health problems identified through CCWHC become research programs for graduate students within the veterinary colleges, so that a number of faculty are involved with wildlife health at each veterinary college.

# WILDLIFE INFECTIOUS DISEASE CONTROL IN EUROPE

Artois M.

CNEVA Nancy, BP N°9, 54220 Malzeville(France)

Present address: Ecole Nationale Veterinaire Lione (ENVL), Unité Pathologie infectieuse, BP 83, 69280 Marcy l'Etoile

**Abstract** - During the last thirty years, common infectious diseases of humans or animals have changed their manner of attack... New epidemiological patterns have emerged as wild species have acted as victim, host or reservoir. This has been seen in rabies, bovine tuberculosis or, more recently, wild-boar classical swine fever. Attempts to control these diseases have not always been successful depending on the criteria of the proposed objective. Emerging diseases are of interest for veterinarians as well as public health officials. As far as wildlife is concerned, difficulties can arise in controlling the population dynamics either of the host or of the pathogen. Lessons learnt from previous experiences could help in the management of new emerging problems.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 89-97

## 1. Historical background

Not long time ago, at a conference, a student asked me " why was it so important to control rabies, since no human death due to rabies has been mourned in Western Europe for more than half a century..." This highlights the point that the need to control infectious diseases in wildlife, is based on what is considered important or not... Obviously, determining what is important is not solely a scientific task. Objective criteria are still lacking.

Currently international organisations, such as the World health organisation (WHO) or the Office international des épizooties, World animal health organisation, (OIE), have listed diseases which should be reported in human and in domestic species. Among them, several are known to occur in wildlife (table I). A special OIE working group, created in 1993, listed the diseases in wildlife which have the potential to cause problems. Nevertheless, new emerging diseases can occur anywhere, anytime.

Wildlife disease specialists (as far as they do exist) are well aware that "disease" is not a relevant concept (Artois, 1993). Usually the pathogenic effect (morbidity) of infection, however infectious or parasitic they might be, are not noticed. Some provokers used to say that in wildlife, "disease" simply does not exist (Moutou & Artois, 1984). Then apart from some uncommon cases, controlling wildlife disease means dealing with an impalpable reality. The last point to mention as an introduction, is a very unique characteristic of wildlife disease : wild mammals and birds arouse love and friendly attitudes from the general public. As symptoms of sickness are not obvious, and

since people are usually not aware that some infections can be passed on to man or domestic species, the rationale for control is difficult to be justified. Spectacular outbreaks of mass mortality (stranded whales, botulism) or infection (IKC, foot rot of sheep, ecthyma) in wildlife are immediately reported in the media, usually in a very emotional way, attracting public attention mainly because of the welfare concerns. Management then, is to be carried out under the scrutiny of TV, radio and newspapers. A situation which is not very comfortable, fortunately nowadays the mad-cow crisis has redirected some of the attention to another topic...

## 2. Surveillance

Management is based on the knowledge of an infectious problem in wildlife. For knowledge, surveillance is the most appropriate way to get structured data. According to a report from Leighton (1994, where relevant addresses could be found), few countries in Europe currently have their own wildlife diseases surveillance network. However a country scale reporting system, assessing an acceptable level of health in game species is recommended in a EU directive (92/45/CEE). It is no universal system for surveillance: some reporting systems are based on zoonotic or specific infection of economical importance, but mostly oriented toward domestic species, some are based on the interest in given animal groups: sea mammals, game animal, rehabilitation centres.

Specialised diagnosis departments for wildlife exist in Sweden (National veterinary institute, Uppsala), the area of Nordrhein-Westfalen,

Tab. 1 - Main parasites and infections in wildlife which are known to be (potentially) important for veterinary public health and economy in Europe.

Type	Name (in domestic species)	Host(s)/ Sentinel	Sp. Frequently mentioned	OIE	Mortality/ Carriage	Zoonose	of concern for domestic animals	of concern for wildlife conservation
tse	Bovine spongiform encephalopathy	bovine	Animals in zoological gardens	B115	?	?	y	n
v	African swine fever	porcine	Wild boar	A120		n	y	h
v	Aujeszky disease	porcine/carnivores	Wild boar, fox	B052	c	n	y	y
v	Avian influenza	birds	Birds (wild boar ?)		c	y	y	
v	Avian pox	poultry	Birds	B307		n	y	
v	Classical swine fever	porcine	Wild boar	A130	m/c	n	y	n
v	Foot and mouth disease	ruminant et porcine	Cervid, wild boar	A010	c	n	y	y
v	Hantavirus (Dobrova, Puumala, Seoul)	man	Field mice and voles		c	y	y	n
v	Myxomatosis	rabbit	Wild rabbit	B351	m	n	y	y
v	Newcastle disease	poultry	Birds	A160	m/c	n	y	
v	Rabbit viral haemorrhagic disease	rabbit	Wild rabbit	B353	m	n	y	
v	Rabies	mammals	Fox, bats	B058	m	y	y	y
r	Q fever	ruminant	Terrestrial vertebrate	B057	c	y	y	
b	Anthrax	mammals	Ungulate	B051	m	y	y	y
b	Avian botulism	ornamental birds	Waterfowl		m	y/n	n	y
b	Avian cholera	poultry	Birds	B306	m/c	n	y	
b	Avian tuberculosis	poultry	Birds	B303	c	y	y	
b	Bovine brucellosis	bovine	Ungulate	B103	m/c	y	y	n
b	Bovine tuberculosis	bovine, caprine, human	Cervid, wild boar, Carnivores	B105	c	y	y	n
b	Leptospirosis	mammals	Commensal rodents	B056	c	y	y	
b	Listeriosis	human	Mammals		c	y	y	
b	Lyme disease	human	Mammals		c	y	y	
b	Paratuberculosis	ruminant	Ungulate	B059	c	n	n	
b	Pasteurellosis	porcine	Mammals		m/c	y	y	
b	Salmonellosis	porcine	Vertebrate		c	y	y	
b	Sheep and goat brucellosis	ovine & caprine	Ungulate	B152	m/c	y	y	n
b	Swine brucellosis	porcine	Wild boar, hare	B253	c	y	y	
b	Tularaemia	hare	Mammals	B352	m	y	n	y
p	Leishmaniasis	human dog	?	B501		y		
p	Toxoplasmosis	human, Cat	Mammals		c	y	y	
c	Echinococcosis/hydatidosis	human, ovine	Fox, wolf, rodents	B053	c	y	y	
n	Trichinellosis	porcine	Wild boar, fox	B255	c	y	y	
ac	Mange	ruminant, equid	Mountain ungulates, fox	B213	m	n	y	n

Germany (Forsthaus Hardt, Bonn), the canton of Vaud (Institut Galli Valerio, Lausanne) in Switzerland and CNEVA Nancy in France. Several laboratories at research institutes (notably Pasteur Institutes; Institute of Animal Pathology, University of Bern, Bern - Switzerland ; Institute for Zoo Biology and Wildlife Research, Berlin, - Germany; Animal Diseases Research Association, Moredun Institute, Edinburgh - Scotland) and many veterinary universities (schools or colleges) are to some extent dealing with wildlife disease surveillance and diagnosis. Most of them carry out, on a limited scale of time and space, investigations concerning some noticeable infections. To the knowledge of the author, the SAGIR network in France is the only institutional network in Europe, officially recognised by a government for reporting mortality and diseases in wild species (Lamarque & Artois, 1997) as recommended by the EU.

On a broader scale expert members of the OIE work group on wildlife diseases, on an annual basis, have reported noticeable events occurring in this field in Europe (Artois *et al.*, 1997; Artois and Mörner, 1998). An informal network mainly based on the members of the European section of the Wildlife disease association (from the above mentioned institutions) provide data to the rapporteurs<sup>1</sup>. EWDA have published an annual report to OIE on wildlife diseases in Europe since 1995, thanks to support from the CNEVA Nancy, France.

There is clearly a great deal of interest in wildlife disease surveillance in Europe, and a lot of information is circulating ; fortunately more and more is being published in international scientific journals, most notably in the Journal of wildlife diseases. But a significant proportion of results presented in different meetings do not appear in peer reviewed journals. Moreover, efforts to co-ordinate the activities in this field (European section of WDA have met every second year since 1995, a FAIR project should start on zoonoses in wild species) are just beginning to develop.

A useful surveillance programme is based on accurate data. It is not the purpose of this paper to review problems linked with the identifying of a pathogen accurately at the individual and population level. This question has been examined by Wobeser (1994). Problems stem from making the diagnosis itself (sensitivity and specificity of tests available for domestic species are different in wild species), the way in which to collect samples (bias of recruitment) and

finally with the assessment of the presence/absence of the infection (Bacon & Macdonald, 1980) and variation of prevalence rate in space and time.

### 3. Control

#### 3.1. Aim

Hone (1994) pointed out that a clear distinction should be made between wildlife control and pathogen or disease control. Actually, the purpose of controlling an infectious disease in wildlife is not precisely defined: is eradication of the pathogen the target, or is it to prevent the contamination of the domestic stock or humans? Rationale for the need of a control is often imposed by threat to human health or for economical reasons. But an analysis of different strategies targeting either the reservoir, the pathogen or the transmission are rarely properly addressed. For example, two books published at the turn of the 80's/90's, explicitly dealing with rabies control (Thraenhart *et al.* 1989, Bögel *et al.*, 1992) did not include any chapter about why rabies should be controlled, neither analysing the chances of success or risk of failure of different strategies. Wobeser (1994) considers that four questions should be asked before beginning any control program:

"Why? How? How far and finally, How will success be measured?"

Krebs *et al.* (1998) reviewing the badger TB problem in the UK, stated how different the opinions are, concerning the need of limiting bovine TB incidence in cattle. According to the point of view on the perception of the seriousness of the threat or on the acceptance of the role of badgers as a reservoir, the necessity and the efficacy of badger culling remains a matter of debate. A lack of clarity in the aim of the badger TB control programme and the general absence of a way to assess efficacy of measures carried out, led these authors to conclude that any demonstration of success or failure was still lacking. In practice, programmes are frequently designed to fit with the perception of what is feasible on the short term, in order to decrease the level of complaints linked with the disease.

The question of a real need a management should not be avoided. In most instances, abstinence is a reasonable position. Gilmour & Munro (1991) argued that nature should be allowed to take its course and achieve a balance. Experts should carefully compare the expected evolution of the infection in the presence or absence of a control, rabies has been an

example that not enough vaccination can slow the natural spread of the infection, extending the period of time of its consequences at a given point (Smith & Harris, 1991, Tischendorf *et al.*, 1998).

### 3.2. Programme

Most of the problems we deal with in this paper are considered important at the country scale. One can wonder by whom and how the decision to control a wildlife infection, is taken. To address this point, one only can refer to non-scientific literature. For rabies and CSF, regular meetings (supported by EU, WHO, OIE and private foundations) have been organised for central veterinary officers to allow a consultation with experts of different countries. For badger TB, the British MAAF has essentially been responsible for the decision, reviewed by several and successive reports (Zuckermann, 1980; Dunnet, 1986; Krebs *et al.*, 1997).

As a consequence of the vagueness of clear objectives, establishment of action plans are usually empirical, resulting from a trial and error process. Action plans are then progressively improved by experience gained in the field. The standard format is a series of regulations enumerating a list of actions to be done by select people, based on opinions expressed by experts. If the disease is epidemic and spreading on a large area, cross border co-operation is necessary, as seen in fox rabies control programmes.

Transmission, after replication of the pathogen within the host, is a key point in the control of contagious diseases. In wildlife, this task is complicated by insufficient knowledge of the dynamics of most host populations. Experimental approaches are notably difficult since the host is usually very elusive which stimulated an extensive array of literature based on the theoretical aspects of the population biology of pathogens in natural hosts populations (Bailey, 1975, Anderson & May, 1979, May & Anderson, 1979, only to mention the most prominent authors). Conditions for the persistence of both the host and the pathogen, and control strategies were the most important areas addressed by these papers, and the voluminous literature which has followed since (see Grenfell & Dobson, 1995; Barlow, 1996; Tompkins & Wilson, 1998 for recent reviews). Few of the proposed models have been actually employed in order to draw up control strategies; in Ontario a spatial simulation model on fox rabies was used to define the plans for distribution of vaccine baits (Voigt *et al.*, 1985). In

addition Anderson *et al.*, 1981; David *et al.*, 1982; for rabies (see Pech & Hone, 1992 for a literature review of a dozen rabies models), Hone *et al.* (1992) or Guberti *et al.* (1997) for CSF, Anderson & Trewthella (1985) or Smith *et al.* (1995) for bovine TB, published hypothesis on the limitations or prospects of different strategies of control. But to what extent this information has really been used by managers, remains non-documented.

### 3.3. Technique

Among the possibilities of control reviewed by Wobeser (1994), management through population reduction has been used in an attempt to control badger bovine TB, CSF in wild boars and fox rabies (other examples of population control are listed by this author). Different methods were employed to kill badgers, wild boars and foxes, either at the den (burrow gassing) or by shooting or trapping (or even poisoning). A trial to reduce an animal population will be sooner or later balanced by reproduction or immigration. It would be desirable to slow these parameters. Contraception has been considered, at least in epidemiological (Wobeser, 1994) or for experimental design (Artois and Bradley, 1995), but is still unpractical under field conditions. Very few of such plans are aimed to evaluate the desired level of population decrease. In addition, only a subjective appraisal of the efficacy is expected.

Most of the drugs or vaccines available for the treatment of domestic species can be used to treat or prevent similar infections, at the individual level, in wild species. But problems for delivering them to free ranging individuals are extremely difficult to solve. In practice, spreading baits for an oral administration is the most well advanced technique (Linhart *et al.*, 1997), but viral vectored transmission is considered as well (Robinson *et al.*, 1997). Examples of treatment, mostly with wormicides, are presented by Wobeser (1994). Before the actual use of orally delivered vaccines for European foxes, (see below), limited trials were carried out for protecting rare valuable species against anthrax (De Vos *et al.*, 1973) or to test feasibility (Rosatte *et al.*, 1981), by parenteral injection (other examples from North America are mentioned by Wobeser, 1994). The limitation of these methods are the capability to immunise (or treat) a sufficient proportion of the population during a significant period of time. Cost, practicality and efficiency are the main limitations of a final success.

## 4. Results

### 4.1. Effect of lethal control

Since the recognition of badgers as a potential vector of TB for cattle in 1980 (Zuckerman, 1980), various strategies have been implemented to cull them. According to the review of Krebs *et al.* (1998) several reasons have prevented to compare the efficiency of different strategies in decreasing the number of reactive cattle. However, it has been noticed that severe removal of badgers at a local scale reduced the incidence of TB in cattle. But persistence of the *Mycobacteria* within the environment and social behaviour of badgers has allowed the infection to persist despite control efforts.

Control of CSF by wild boar shooting have been attempted in Europe, but were poorly documented in peer reviewed scientific journals (Aubert *et al.*, 1994). Appropriate methods to assess the culled fraction of the population have never been used in any country. According to French (Coustel & Fouquet, 1994, Burger *et al.*, 1997) and Italian (Guberti *et al.*, 1997) experiences, the level needed for control does really surpass the usual hunting cull and should essentially target the young boars. In the known recorded outbreak CSF in these countries, the natural turn-over of the boar population allowed boars to recover in the space of a few years. After culling, long persistence of the infection within the infected population is a common rule, with a very slow decrease in the registered virus carriers and seropositives. Apparent eradication was claimed when no more infected were recorded, but persistence of antibodies in young at this time should lead to a more prudent diagnosis. To my knowledge, no appropriate statistical method has been applied anywhere in Europe to assess the probability of detection of the CSF infection in wild boars at a low level (see Wobeser, 1994 for description of available standard methods).

For years, the only way to control rabies was by fox culling. Organisation and efficacy were reviewed and discussed by Macdonald *et al.*, 1981. In several instances, bounties were paid to non-professionals in order to encourage fox destruction. Origin of the samples (tails) turned in for payment of a bounty was difficult to assess (when samples were actually checked); payment of bounties was in some circumstances unduly considered as a regular support for outdoor entertainment, consequently a decrease of the resource fox population was not desired. These factors, associated with social

changes in rural areas and the capacity of the fox population to overcome destruction, did not allow control to be efficient on the long term, neither against the progression of the geographic expansion (Artois, 1983) nor against subsequent re-occurrences of the infection (Aubert, 1994). Blancou *et al.* (1991) cautiously concluded, that fox culling has never been proven as efficient for the control of rabies on the European continent.

### 4.2 Oral vaccination

To this point, rabies has been the only example where the pathogen causing an infection in wildlife has been targeted for control on a significantly large scale. The project was in mind of several scientists, but Baer *et al.* (1971) were the first to demonstrate that immunisation against rabies was possible in fox by the oromucosal route of administration. Years were spent in research in the lab, animal facilities and finally in the field before Swiss researchers first released the SAD strain on a limited scale field trial in 1978 (Steck *et al.*, 1982). European co-operation, under the auspices of WHO allowed a prudent and progressive expansion of fox oral vaccination against rabies in several countries (Stöhr & Meslin, 1996). Much work has been devoted to the assessment of efficacy and safety of the method, including a project in a BAP EEC programme on GMO: Flamand *et al.*, 1991. Oral immunisation of foxes techniques have been reviewed in Wandeler (1991). Currently, where sufficiently well co-ordinated efforts have been concentrated in an area, using good vaccines and an appropriate method of bait distribution, a dramatic decrease of rabies has been observed (Aubert, 1995). By comparison, untreated areas have suffered a persistence of the infection (Aubert, 1992).

To be complete, trials to treat foxes against echinococcosis with baits loaded with Praziquantel (Schelling *et al.*, 1997), or to vaccinate wild boars against CSF are currently carried out on a limited scale in Germany (EU meeting, Perouse, 1998). Only preliminary data have been published in peer reviewed journals.

## 5. Discussion

The management of wildlife infectious diseases in Europe is still exceptional, apart from the three above mentioned examples, few other diseases are known to be worth considering (echinococcosis, Lyme disease...). Recent crisis have attracted attention concerning emerging

diseases ; as pointed out in several reviews (Morse, 1993; Brown, 1997; Chomel, 1998), several factors are involved. Among them, the followings are notably worrying (only to mention European examples) :

- Introduction of an exotic (potential or actual) reservoir (e.g. racoon dog rabies in Finland and Poland, human tularaemia acquired from imported hares in Italy and Spain),
- changes in demographic balances of natural wild reservoir and/ or vectors amplify a pathogen otherwise not noticeable (e.g. Aujeszky virus infection in wild boars in central Europe, fox mange in Scandinavia, fox rabies (bat rabies ?), wild boar trichinellosis, multilocular echinococcosis, Looping ill amplified by hare population on the increase in Scotland, Lyme disease amplified by increase of deer which could have increased tick populations),
- wild free ranging populations can be infected by domestic species and then act as reservoir (Chamois Brucellosis in the Alps, Badger Tuberculosis),
- both combined (CSF in wild boar),
- change in breeding practices of domestic species increases the chances of cross infections (e.g. Swine brucellosis at *Brucella suis* biovar 2 transmitted by wild boars to pigs in open air settlements)?
- Environmental (global ?) changes increase the potential for microparasites to become pathogenic (increase of avian botulism records).

Actually, separation of the origin of the cited problems is partly artificial, since in most cases, they are combined. In addition, some emerging problems are still not explained such as Hantaviruses, or Tick borne encephalitis ; others are just suspected to be able to occur sooner or later : epizootic of Newcastle disease in migrating waterfowl, highly pathogenic human influenza emerging from European wild reservoir by natural recombination between wild boar and waterfowl virus... Natural recombination of genes can as well create new pathogenic strains (Cholera, anthrax, *E. coli* H7 O157...), this could occur at any time in wild species and spread to humans and domestic species by some unexpected routes (how could *Brucella* infection have evolved in marine mammals?).

Finally, it should be mentioned that emerging diseases can affect the conservation of natural species in the same way : infectious kerato conjunctivitis in Chamois and Ibex was recently shown to be due to *Mycoplasma conjunctivae* (Giacometti *et al.*, 1998). This allows the speculation that sheep are responsible for the cont-

amination of wild ungulates, as it could be with Q fever, mange and probably other diseases. Small isolated populations of rare and endangered wild animals, not only overseas, are threatened with extinction if pathogenic parasites invade them from outside domestic reservoirs. Large populations have been affected by more extensive outbreaks : Phocine distemper and fox mange in Scandinavia has attracted attention, because of its origin and the ecological consequences of such mass mortality involving a transmissible infectious agent.

This present paper has addressed the questions of whether it was desirable to eradicate an infection in wild species and if desirable how to make the decision to control it : detection, alert function, aim and target, feasibility, environmental safety and ecological efficacy, are all key points to consider in making a good decision. It is of a special importance to consider ethical, sociological and political factors with a great deal of tact as the communication with the public concerned is of greater importance than the actual management done in the field (doing something just to show the public that something is being done could have dramatic consequences ; becoming an object of ridicule, being, at the least humiliating).

When it is decided to manage an infectious wildlife disease, much more planning, preparation in risk analysis should be done than is presently practised. One can wonder if increasingly culling a species would be sustainable, only for ecological reasons? As well, since most of the species (i.e. rodents, medium Carnivores and ungulates, among mammals) involved in infectious diseases in Europe are wide spread and populous, it would be well worth to spend more effort in understanding why they are doing so well. Alternative strategies to culling should be developed. Since sanitary hazards are frequently part of what makes an animal a "problem species", infections should be dealt with together with other problems in a pluri disciplinary approach.

Therefore, for human and veterinary public health officials, the challenge of developing a new field of expertise is posed. It is not uncommon to hear wildlife veterinarians arguing that field biologists, especially those involved in conservation, should be more involved in veterinary medicine (Hutchins *et al.*, 1991). This is true, but it is far too infrequent to see veterinarians taking lessons from scientists working in population biology, behavioural ecology, modelling or even bio statistics! Experience

from previous attempts to manage infections in wild free ranging species have shown that agencies dealing with human and animal health are not well enough informed. The common belief that a classical training in medicine and veterinary practice are sufficient to deal with this should be corrected (Peterson, 1991). On an other hand population biologists are notably disappointed by an absence of involvement in field research by microbiologists (Wake, 1998).

At least a minimum number of references should be available in offices, that would include the following: Combes, 1995; Caughley & Sinclair, 1994; Hone, 1994; Scott & Smith, 1994; Wobeser, 1994. The ideas and concepts included in these books (and surely several others) are well accepted by biologists and most, if not all, wildlife veterinarians, but they still should be popularised among veterinary officers, and government workers.

The lack of basic knowledge on these topics is not only a result of an inappropriate training, it is also a consequence of the fact that too many results obtained in this field are only published (when they are published) at non-scientific meetings, in internal reports, or solely in professional newspapers but rarely in peer reviewed international journals. A huge amount of crucial information is stored therefore in "grey literature" or simply in the memory of the actors of local events. Lessons and expertise deduced from previous experience are beneficial for the community on a whole since at the stage where we are, good descriptions and clear portrayal of facts are needed. We can certainly speculate and try to build hypotheses, models and theory about emerging infections and parasites, but factual information (properly sampled) is what is really desired.

On the European scale, greater co-ordination between agencies should be stressed. A special training in zoology of hosts and vectors (namely entomology and acarology), ecological epidemiology, population biology of parasites and infection, wildlife management, should be included in veterinary and medical schools (Kirkwood, 1994). Equally the study of diseases, infection and zoonoses should be a part of field biologists training. Money spent in this way would be better used that wasted in calamitous wildlife disease control programmes, the worst having not been mentioned in this paper. My final message is that the passion displayed by wildlife disease specialists does not mean they are not good professionals. Ecology

is as important as epidemiology, or even animal health ; wildlife management and conservation can be regarded just as can stock and cattle breeding ; in any case knowledge, expertise and experience do exist, it's just necessary to knock at the right door.

## References

- ANDERSON R.M. & R.M. MAY (1979) – Population biology of infectious diseases: part I. *Nature*, 280: 361-367.
- ANDERSON R.M., H.C. JACKSON, R.M. MAY & A.D.M. SMITH (1981) – Population dynamics of fox rabies in Europe. *Nature* (5800) : 765-771.
- ANDERSON R.M. & W. TREWHELLA (1985) – Population dynamics of badgers (*Meles meles*) and epidemiology of bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*). *Phil. Trans. R. Soc.*, B310 : 327-381.
- ARTOIS M. (1993) – Mammifères sauvages, maladies contagieuses et environnement. *Point Vét.*, 24 : 17-25.
- Artois M. & M. Bradley (1995) – Un vaccin contre les renards. Pour enrayer la prolifération des animaux indésirables, un appât contraceptif. *La Recherche* (281): 40-41.
- ARTOIS M. (1983) – Evolution de la rage vulpine dans les Alpes françaises. *Actes VII<sup>e</sup> Colloque National de Mammalogie*, Grenoble, 15-16 octobre, 37-45.
- ARTOIS M., T. MÖRNER & M. WOODFORD (1997) – Annual report to OIE on wildlife diseases in Europe 1996/early 1997, 5 p.
- ARTOIS M. & T. MÖRNER (1998) – Wildlife diseases in Europe : an annual report to OIE by the European section of the Wildlife disease association (EWDA), 1997, 36 p.
- AUBERT M. (1992) – Epidemiology of fox rabies. In: Bögel K., Meslin F.X., Kaplan M. (Eds.) *Wildlife rabies control*. Wells Medical Ltd., Kent, 9-18.
- AUBERT M. (1994) – Control of rabies in foxes: what are the appropriate measures? *Vet. Rec.* (134) : 55-59.
- AUBERT M., M. PICARD, E. FOUQUET, J. CONDE, C. CRUCIERE, R. FERRY, E. ALBINA, J. BARRAT & F. VEDEAU (1994) – La peste porcine classique du sanglier en Europe. *Ann. Méd. Vét.*, 138 : 239-247.
- AUBERT M. (1995) – Epidémiologie et lutte contre la rage en France et en Europe. *Bull. Acad. Nat. Méd.*, 179 (5) : 1033-1054.
- Bacon P.J. & D.W. MACDONALD (1980) – To control rabies: vaccinate foxes. *New Sci.*, 640-645.
- BAER G.M., M.K. ABELSETH & J.G. DEBBIE (1971) – Oral vaccination of foxes against rabies. *Am. J. Epidemiol.*, 93 (6): 487-490.
- BAILEY N.T.J. (1975) – *The mathematical theory of infectious diseases and its application*. Griffin, London, 401 p.
- BARLOW N.D. (1996) – The ecology of wildlife disease control: simple models revisited. *J. Appl. Ecol.*, 33 : 303-314.
- BLANCOU J., M.F.A. AUBERT & M. ARTOIS (1991) – Fox rabies. In: Baer G.M. (Ed.) *The natural history of rabies*, 2<sup>nd</sup> ed. CRC Press, Boca Raton, pp 257-290.

- BÖGEL K., F.X. MESLIN, M. KAPLAN (1992) – Wildlife rabies control. *Wells Medical Ltd.*, Kent, 222 p.
- BROWN C. (1997) – Emerging diseases – what veterinarians need to know. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 9: 113-117.
- BURGER C., M. GONZAGUE, P. GILLI-DUNOYER, M. PICARD & C. CRUCIERE (1997) – La peste porcine classique chez les sangliers du massif vosgien. *Epidémiol. Santé Anim.* (31-32) : 01/11.
- Caughley G. & A.R.E. Sinclair (1994) – Wildlife ecology and management. *Blackwell Science, Cambridge*, 334 p.
- CHOMEL B.B. (1998) – New emerging zoonoses: a challenge and an opportunity for the veterinary profession. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 21: 1-14.
- COMBES C. (1995) – Interactions durables. Ecologie et évolution du parasitisme. *Masson, Paris*, 524 p.
- Coustel G. & E. Fouquet (1994) – Les difficultés de la maîtrise sanitaire : l'épidémie de peste porcine classique dans l'Est de la France. *Bull. Mens. ONC* (189): 123-124.
- DAVID J.M., L. ANDRAL, M. ARTOIS (1982) – Computer simulation model of the epi-enzootic disease of vulpine rabies. *Ecol. Model.*, 15 : 107-125.
- DE VOS V., G.L. VAN ROOYEN, J.J. KLOPPERS (1973) – Anthrax immunization of free-ranging roan antelope *Hippotragus equinus* in the Kruger National Park. *Koedoe*, 16 : 11-25.
- DIRECTIVE 92/45/CEE du conseil du 16 juin 1992 concernant les problèmes sanitaires et de police sanitaire relatifs à la mise à mort du gibier sauvage et à la mise sur le marché de viandes de gibier sauvage. *J.O.C.E.* (1268) : 35-53
- DUNNET G.M., D.M. JONES & J.P. MCINERNEY (1986) – Badgers and bovine tuberculosis. *HMSO*, 73 p.
- FLAMAND A., J. BLANCOU, P.P. PASTORET (1991) – Monitoring the potential risk linked to the use of modified live viruses for antirabies vaccination of foxes. In: Economidis I. (Ed.) *Biotechnology R & D in the EC. Biotechnology Action Programme (BAP). Part I: Catalogue of BAP achievements on risk assessment for the period 1985-1990. Commission of the European Communities*, pp 79-83.
- GIACOMETTI M., J. NICOLET, J. FREY, M. KRAWINKLER, W. MEIER, M. WELLE, K.E. JOHANSSON, M.P. DEGIORGIS (1998) – Susceptibility of alpine ibex to conjunctivitis caused by inoculation of a sheep-strain of *Mycoplasma conjunctivae*. *Vet. Microbiol.*, 61 : 279-288.
- GILMOUR J.S. & R. MUNRO 1991 – Wildlife disease: management or masterly inactivity? *J. Nat. Hist.*, 25: 537-541.
- GRENFELL B.T. & P. DOBSON (1995) – Ecology of infectious diseases in natural populations. *Cambridge University Press, Cambridge*, 521 p.
- GUBERTI V., G. FERRARI & S. CERONI (1997) – Rôle du sanglier sauvage (*Sus scrofa*) dans l'épidémiologie de la fièvre porcine classique en Italie. XXIII<sup>e</sup> Congrès de l'Union Internationale des Biologistes du Gibier, Lyon, 1-6 septembre, 1 p.
- HONE J., R. PECH & P. YIP (1992) – Estimation of the dynamics and rate transmission of classical swine fever (hog cholera) in wild pigs. *Epidemiol. Infect.*, 108 : 377-386.
- HONE J. (1994) – Analysis of vertebrate pest control. *Cambridge University Press, Cambridge*, 258 p.
- HUTCHINS M., T. FOOSE & U.S. SEAL (1991) – The role of veterinary medicine in endangered species conservation. *J. Zoo Wildl. Med.*, 22 (3) : 277-281.
- IRMER S. & H.L. SCHLEGEL (1981) – Impfung von Jungfüchsen – eine Alternative zur Tollwutbekämpfung? Der Versuch einer Kosten-Nutzen-Analyse. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.*, 94 : 202-207.
- KIRKWOOD J.K. (1994) – Veterinary education for wildlife conservation, health and welfare. *Vet. Rec.*, 148-151.
- KREBS J.R., R. ANDERSON, T. CLUTTON-BROCK, I. MORRISON, D. YOUNG & C. DONNELLY (1997) – Bovine tuberculosis in cattle and badgers. *Report to the Rt Hon J. Cunningham*, 191 p.
- KREBS J.R., R.M. ANDERSON, T. CLUTTON-BROCK, C.A. DONNELLY, S. FROST, W.I. MORRISON, R. WOODROFFE, D. YOUNG (1998) – Badgers and bovine TB: conflicts between conservation and health. *Science*, 279 : 817-818.
- LAMARQUE F. & M. ARTOIS (1997) – Surveillance of wildlife diseases in France: the SAGIR network. *Epidémiol. Santé Anim.* (31-32) : 07.B.31.
- LEIGHTON F.A. (1994) – Surveillance of wild animal diseases in Europe. A survey of sources of information on wildlife diseases. *Cooperative Project Canadian Cooperative Wildlife Health Centre – CNEVA Nancy, France*, 87 p.
- LINHART S.B., A. KAPPELER & L.A. WINDBERG (1997) – Review of baits and bait delivery systems for free-ranging carnivores and ungulates. In: Kreeger T.J. (Ed.) *Contraception in wildlife management. Techn. Bull. Dept. Agr. Anim. Plant Health Insp. Serv.*, 1853 : 69-132.
- MACDONALD D.W., R.G.H. BUNCE, P.J. BACON (1981) – Fox populations, habitat characterization and rabies control. *J. Biogeogr.*, 8 : 145-151.
- MAY R.M. & ANDERSON R.M. (1979) – Population biology of infectious diseases. *Part II. Nature*, 280 : 455-461.
- Mesure de contrôle de la peste porcine classique chez le sanglier sauvage en Europe. *Séminaire organisé par l'Institut de prophylaxie expérimentale de Pérouse*, 5-7 avril 1998, 4 p.
- MORSE S.S. (1993) – Emerging viruses. *Oxford University Press, New York, Oxford*, 317 p.
- MOUTOU F. & ARTOIS M. (1984) – L'approche écologique de la pathologie. In: *Pathologie et mammifères sauvages. VIII<sup>e</sup> Colloque de la SFEPM, Créteil*, 20-21 Octobre, pp 9-13.
- PECH R.P. & J. HONE (1992) – Models of wildlife rabies. In P. O'Brien and G. Berry (eds.), *Wildlife rabies contingency planning in Australia. National Wildlife Rabies Workshop*, 12-16 March 1990.
- PETERSON W.J. (1991) – Wildlife parasitism, science and management policy. *J. Wildl. Manage.*, 55 (4) : 782-789.

- ROBINSON A.J., R. JACKSON, P. KERR, J. MERCHANT, I. PARER, R. PECH (1997) – Progress towards using recombinant myxoma virus as a vector for fertility control in rabbits. *Reprod. Fertil. Dev.*, 9 : 77-83.
- ROSATTE R.C., D.R. HOWARD, J.B. CAMPBELL & C.D. MACINNES (1990) – Intramuscular vaccination of skunks and raccoons against rabies. *J. Wildl. Dis.*, 26 : 225-230.
- SCOTT M.E. & G. SMITH (1994) – Parasitic and infectious diseases. Epidemiology and ecology. *Academic Press, San Diego*, 398 p.
- SCHELLING U., W. FRANK, R. WILL, T. ROMIG & R. LUCIUS (1997) – Chemotherapy with praziquantel has the potential to reduce the prevalence of *Echinococcus multilocularis* in wild foxes (*Vulpes vulpes*). *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 91 (2) : 179-186.
- SMITH G.C. & S. HARRIS (1991) – Rabies in urban foxes (*Vulpes vulpes*) in Britain: the use of a spatial stochastic simulation model to examine the pattern of spread and evaluate the efficacy of different control regimes. *Ph. Trans. R. Soc. Lond. B*, 334 : 459-479.
- SMITH G.C., M.S. RICHARDS, R.S. CLIFTON-HADLEY & C.L. CHEESEMAN (1995) – Modelling bovine tuberculosis in badgers in England: preliminary results. *Mammalia*, 59 : 639-650.
- STECK F., A. WANDELER, P. BICHSSEL, S. CAPT & L. SCHNEIDER (1982) – Oral immunisation of foxes against rabies. A field study. *Zbl. Vet. Med.*, 29 : 372-396.
- STÖHR K & F.X. MESLIN (1996) – Progress and setbacks in the oral immunization of foxes against rabies in Europe. *Vet. Rec.*, 139 : 32-35.
- THRAENHART O., H. KOPROWSKI, K. BÖGEL & P. SUREAU (1989) – Progress in rabies control. *Wells Medical, Kent*, 614 p.
- TISCHENDORF L., H.H. THULKE, C. STAUBACH, M.S. MULLER, F. JELTSCH, J. GORETZKI, T. SELHORST, T. MULLER, H. SCHLÜTER & C. WISSEL (1998) – Chance and risk of controlling rabies in large-scale and long-term immunized fox populations. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B Biol.*, 265 : 839-846.
- TOMPKINS D.M. & K. WILSON (1998) – Wildlife disease ecology: from theory to policy. *TREE*, 13 : 476-478.
- VOIGT D.R., R.R. TINLINE, L.H. BROEKHOVEN (1985) – A spatial simulation model for rabies control. In: Bacon P.J. (Ed.) Population dynamics of rabies in wildlife. *Academic Press, London*, 311-349.
- WAKE D.B. (1998) – Action on amphibians. *TREE*, 13 (10) : 379-380.
- WANDELER A.I. (1991) – Oral immunization of wildlife. In: Baer G.M. (Ed.) *The natural history of rabies, 2nd ed.* CRC Press, Boca Raton, 485-503.
- WANDELER A.I., S.A. NADIN-DAVIS, R.R. TINLINE & C.E. RUPPRECHT (1994) – Rabies epidemiology: some ecological and evolutionary perspectives. In: Rupprecht C.E., Dietzschold B., Koprowski H. (Eds.) *Lyssaviruses.* Springer Verlag, Berlin, 297-324.
- WOBESER G.A. (1994) – Investigation and management of disease in wild animals; *Plenum Press, New York*, 265 p. (Eds)
- ZUCKERMAN O.M. (1980) – Badgers, cattle and tuberculosis. *Report to the Right Hon. P. Walker*, 106 p.



# MATHEMATICAL MODELS AND WILDLIFE DISEASES: TECHNIQUES OF PARAMETERS ESTIMATION FOR NEMATODES INFECTIONS

Rosà R. \*, Rizzoli A. \*, Pugliese A. \*\*, Genchi C.\*\*\*

\* Centro di Ecologia Alpina, Viote del Monte Bondone, 38040 Trento, Italy

\*\* Dipartimento di Matematica, Università degli Studi di Trento, 38100 Povo (Tn), Italy

\*\*\* Istituto di Patologia Generale e Parassitologia, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano - 20100, Milano, Italy

**Abstract** - The use of mathematical models in the study of wild host-nematodes interaction is still limited since the estimate of the numerical values of many parameters of the models are usually difficult to be quantified empirically. In this paper we present a technique of parameter estimation based on a mathematical model for macroparasitic infections using a Bayesian updating method. As a case-study we considered a Trichostrongylidae, principally *Teladorsagia circumcincta*, infection in a chamois population (*Rupicapra rupicapra* L.). Using these estimates a value of the basic reproduction ratio ( $R_0$ ) equal to 2.4 was obtained.

**Riassunto** - L'utilizzo dei modelli matematici nello studio delle interazioni tra ospiti vertebrati e nematodi parassiti è ancora limitato poiché la stima dei valori numerici di molti parametri in essi contenuti risulta spesso difficoltosa. In questo lavoro viene presentata una tecnica di stima parametrica che utilizza un approccio di tipo Bayesiano. È stato utilizzato un modello matematico per infestazioni macroparassitarie a ciclo diretto implementato su dati di tipo empirico relativi a un'infestazione da Trichostrongylidae, soprattutto *Teladorsagia circumcincta*, in una popolazione di camoscio (*Rupicapra rupicapra* L.). Le stime dei parametri ottenute forniscono un valore di  $R_0$  (tasso base di riproduzione del parassita) pari a 2.4.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 99- 106

## 1. Introduction

Mathematical models play a significant role in our understanding of epidemiology and dynamics of parasite-host interactions (Anderson & May, 1991; Scott & Smith, 1994; Grenfell & Dobson, 1995) but their use in the analysis of many macroparasites (as nematodes) -wildlife systems is still limited (Barlow, 1995).

One reason is that the estimate of the numerical values of many parameters used in such models require long-term studies on host demography and manipulative experiment to understand parasite induced effects (Gulland, 1992; Hudson *et al.*, 1992; Hudson *et al.* 2002.; McCallum & Dobson, 1995). Environmental complexity, in terms of geomorphology and climate, and species behaviour that affect their observation and monitoring (these characteristics are common in Alpine ecosystems and many of their wildlife species) often represent a limitation for the development of epidemiological and ecological studies on nematodes infections in wildlife with the application of mathematical models.

Our theoretical approach to these constrains is to use mathematical models as exploratory tools (Damaggio *et al.*, 1996; Rosà *et al.*, 1997) for obtaining a first estimate of some funda-

mental parasite population parameters and parameters regarding the host-parasite interaction using only few measures of parasitological and demographic variables of the two populations.

These estimate will be derived by simulating the relationship between parasite dynamics and host dynamics with the use of a mathematical model. They will represent a guidance for further study and they will prove useful only if there is a reasonable agreement between the dynamics simulated by the model and the temporal changes actually observed in the host and parasite populations under study.

In this paper we present the estimate of the numerical values of some parameters regarding a Trichostrongylidae infection in a chamois (*Rupicapra rupicapra* L.) population obtained by the application of a 4-dimensional deterministic model (Pugliese *et al.*, 1998) to a set of empirical estimate of parasite and host demographic variables (Rizzoli, 1995; Damaggio *et al.*, 1996; Rosà *et al.*, 1997).

## 2. Material and methods

### 2.1 Case study

Epidemiological investigations on a chamois population (*Rupicapra rupicapra* L.) of the Province of Trento (Italy) were carried out

after a population crash (Rizzoli, 1995). Pulmonary and abomasal nematodes, principally *Neostromylus linearis* (Marotel, 1913) and *Teladorsagia circumcincta*, Stadelmann, 1894, were recorded as highly prevalent and abundant. Under the hypothesis that the parasite intensity of infection was related with changes in the vital rates of the host population, a 4-dimensional deterministic model was constructed. In this study only direct transmitted parasites were considered. Measure of abomasal nematodes abundance and aggregation were recorded during a 4 year surveys; host demography was studied over 10 years population counts (Rosà et al., 1997).

**2.2 The mathematical model**

A classical model for studying host-macroparasite interactions was introduced by Anderson and May (1978) for the case of macroparasites with direct life-cycles. This model has been modified by letting the aggregation be a dynamic variable (Adler & Kretzschmar, 1992), introducing a carrying capacity for the host (Pugliese & Rosà, 1995) and assuming that infections will generally occur with several larvae at the same time (Damaggio et al., 1996). The resulting model (Pugliese et al., 1998) has a reasonable flexibility in explaining observed values of aggregation, and all its parameters have a biological interpretation and are, at least in principle, passable of independent measurement. Mathematically, it consists of four coupled differential equations (equations 1) describing changes in the host population size, *N*; the mean adult parasite burden, *χ*; the aggregation of parasite distribution, *A* (defined as the ratio of the variance to the mean) and the number of free living larvae, *L*.

1)

$$\begin{aligned} \frac{dN}{dt} &= N[\beta(1 + (A-1)(1-\xi))^{-\lambda} - \mu - (\beta - \mu)N/N_c - \alpha\chi] \\ \frac{d\chi}{dt} &= \chi[\sigma - \alpha d - \beta(1 + (A-1)(1-\xi))^{-\lambda} + \theta\psi L] \\ \frac{dA}{dt} &= -(A-1)[\sigma + \alpha d + \frac{\theta\psi L}{x}] + \beta(1 + (A-1)(1-\xi))^{-\lambda} + \frac{\theta\psi L}{x} \lambda \\ \frac{dL}{dt} &= hN_c - dL - \theta L N \end{aligned}$$

The parameters of the model are described in Table 1. Equations of the model (1) can be examined when the parasite is first introduced to the host populations to produce an expression for the basic reproduction ratio (*R*<sub>0</sub>) of the parasite. When *λ*=0 we obtain the following expression:

2)

$$R_0 = \frac{h\psi\theta N_c}{(\delta + \theta N_c)(\beta + \sigma + \alpha)}$$

When the basic reproduction ratio equals unity, equation (2) can be rearranged to provide an expression for the threshold number of hosts required to continuously sustain an abomasal infection:

3)

$$N_c = \frac{\delta(\beta + \sigma + \alpha)}{\theta(h\psi - (\beta + \sigma + \alpha))}$$

When *λ*>0 an extra term appears in the denominator of *R*<sub>0</sub> because the infection occur with several larvae at the same time; consequently, also the expression of *N*<sub>c</sub> will differ somewhat (for details see Pugliese et al., 1998).

**2.3 Estimating parameters: techniques**

A standard method in parameter estimation is the minimisation of the sum of squared deviations between model predictions and observed data. Without aiming at a precise estimate with an error margin, we suggest here instead two simpler methods, based on a single (or few) static measure; these methods give a quick idea of the values of model parameters that are compatible with data, and of the sensitivity of model predictions on parameter values.

**2.4 Backward deterministic estimation**

In the simplest method, we simply assume that the observed values correspond to an equilibrium of the model. We then use the model backwards, finding from the equilibrium the parameter values. More precisely, we start from the equations for the endemic equilibrium, obtained setting equal to 0 the right hand sides of the model (1). With some algebraic manipulations, we obtain, if *ξ*=0, the following equations to estimate *α*, *λ*, *θ*, and *h*:

4)

$$\alpha = \frac{\beta - \mu}{x^*} (1 - \frac{N^*}{N_c})$$

5)

$$\lambda = \frac{(A^* - 1)(2\alpha d^* + 2\sigma + \beta) - \beta x^*}{\alpha A^* + \beta + \sigma}$$

6)

$$\theta = \frac{x^*(\alpha A^* + \beta + \sigma)}{\psi L^*}$$

**Tab. 1** - Meaning of variables and parameters of the model

Parameter	Description
$N$	Host population size
$x$	Mean adult parasite burden
$A$	Aggregation of parasite distribution (defined as variance/mean)
$L$	Number of free living larvae
$\beta$	Instantaneous birth rate of hosts
$\mu$	Instantaneous death rate of hosts
$N_K$	Carrying capacity for the host population
$\sigma$	Instantaneous death rate of adult parasite within the host
$\lambda$	Mean number of free-living stages forming a single infecting "parcel"
$h$	Instantaneous rate of production of infecting larva
$\delta$	Instantaneous death rate of adult of free-living stages
$\psi$	Proportion of ingested larvae that develop to adult stage
$\alpha$	Instantaneous death rate of host due to the parasite
$\xi$	Instantaneous reduction in chamois fertility due the parasite
$\theta$	Average instantaneous rate of infection of host by parasite

7)

$$h = \frac{L'(\delta + \theta N^*)}{x^* N^*}$$

If a numerical value for  $L$  is not known, but it may be assumed that it is relatively large, it is still possible to estimate the values of  $\alpha$ ,  $\lambda$  and the product of  $\theta$ ,  $h$ . In fact, the product of equations (6) and (7) gives

8)

$$\theta h = (\alpha \lambda^* + \beta + \sigma) \left[ \frac{\delta}{N^*} + \frac{x^* (\alpha \lambda^* + \beta + \sigma)}{L'} \right] = (\alpha \lambda^* + \beta$$

With this method it possible to estimate a number of parameters equal to the number of equations of the model, if all the variables of the model are observable. The parameters to be estimated are those for which direct measures are lacking or are most uncertain. The other parameters are fixed at the best empirical estimates. While this method is certainly simplistic, it can be integrated through a sensitivity study (Fig. 1): one can vary the values of the parameters to be estimated, and see the effect on the equilibrium values.

**2.5 Bayesian updating method**

The previous method can be integrated with

the standard method of minimising the squared deviations via a Bayesian technique.

In Bayesian methods, one starts from a prior distribution on parameters, reflecting initial uncertainties; following standard usage, the multidimensional parameter will be denoted by  $\Theta$ , the observed data by  $X$ , the prior distribution by  $P(\Theta)$ . As a second ingredient, one has a likelihood function of the observed data,  $P(X/\Theta)$ , i.e.  $P(X/\Theta)$  is the probability that the observed data occur given that the parameter is equal to  $\Theta$ . Finally, Bayes' formula yields the posterior (after having observed the data) distribution  $P(X/\Theta)$  of the parameters as

$$P(\Theta / X) = cP(X / \Theta)P(\Theta)$$

where  $c$  is a normalising constant that ensures that  $P(X/\Theta)$  is a probability distribution. In our case, the prior parameter distributions were chosen on the basis of literature data and our feeling for existing uncertainties. The choice is described in the Table 2.

The likelihood function will depend on the dynamical model we are using and there are several possible choices (Patwardhan and Small, 1992). Our choice was simply the Gaussian centred on the equilibrium values predicted by the model for a given value of the parameters.

Precisely, letting  $N$ ,  $x$  and  $A$  denote the observed values of host population size, mean parasite burden, and aggregation of parasite distribution, we used

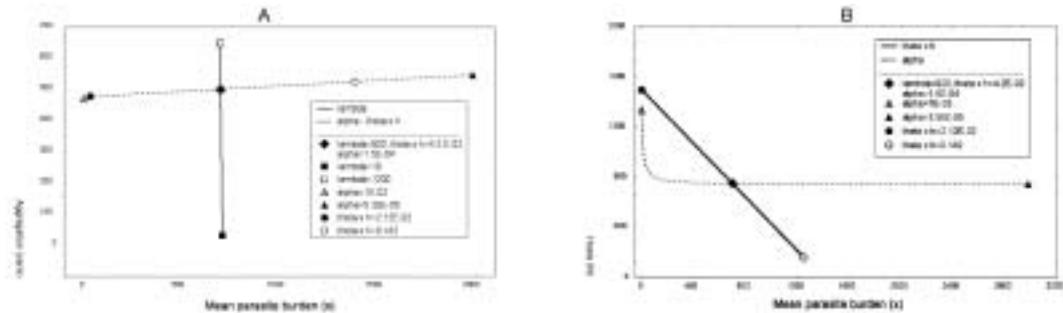
$$P(X / \Theta) = \exp(-2.SS^2(\Theta))$$

where

$$SS^2(\Theta) = \frac{(N - N^*(\Theta))^2}{\sigma_1^2} + \frac{(x - x^*(\Theta))^2}{\sigma_2^2} + \frac{(A - A^*(\Theta))^2}{\sigma_3^2}$$

and  $N^*(\Theta)$ ,  $x^*(\Theta)$ ,  $A^*(\Theta)$  represent the values of endemic equilibrium for our mathematical model when the multidimensional parameter is  $\Theta$ . In words, this choice says that, if we were known, a data point would be more likely, the closest (in the sense of least squares) it was to the equilibrium of the model with parameter  $\Theta$ .

To obtain the posterior distribution on  $\Theta$ , using (9), we need to compute  $P(X/\Theta)$ , and thus  $N^*(\Theta)$ ,  $x^*(\Theta)$ ,  $A^*(\Theta)$ , for a large number of possible values of  $\Theta$ . Since  $\Theta$  is multidimensional, the number becomes quickly very large: for instance, if  $\Theta$  was 6-dimensional and we were



**Fig. 1** – Sensitivity study on the method of fixed parameters for the estimation of  $\alpha$ ,  $\lambda$  and  $\theta h$ . Other parameters are  $\beta=0.44$ ,  $\mu=0.23$ ,  $N_k=1500$ , (Rosà *et al.*, 1997);  $\delta=3$ ,  $\sigma=6$ ,  $\psi=0.65$  (Smith and Grenfell, 1985; Michel, 1970);  $\xi=1$ . The endemic equilibrium is assumed to be  $N^*=750$ ,  $x^*=700$ ,  $A^*=500$  (Rosà *et al.*, 1997). A) Projection on the  $(A, x)$  plane; B) Projection on the  $(N, x)$  plane. The point of intersection between two curves, ( $\alpha=1.5 \cdot 10^{-4}$ ,  $\lambda=920$ ,  $\theta h=4.2 \cdot 10^{-2}$ ) is the same for both figures and represents the backward deterministic estimate.

content with a very coarse subdivision of each one-dimensional component of  $\Theta$  in 10 parts, we would have  $10^6$  combinations to consider. In order to improve the efficiency, we did not computed all possible combinations, but followed the Latin Hypercube sampling scheme: see McKay *et al.* (1979) or Blower and Dowlatabadi (1994) for details.

The posterior distribution is genuinely multidimensional: even if in the prior distribution parameters are assumed to be not correlated, they will generally be correlated in the posterior distribution. In order to have a grasp of the posterior distribution, we will show its one-dimensional marginal distributions (the distributions of each single uncertain parameter of the model) and some descriptive statistics (mainly mean and variance of each parameter, and their correlations).

### 3. Results

The results of the sensitivity study on the backward deterministic estimation are presented in Fig. 1. Part A shows the effect of variations of parameter values on the mean parasite burden and the aggregation of the parasite distribution:  $\lambda$  (the mean number of free-living stages forming a single infecting parcel) influences only the aggregation, and basically the aggregation depends only on  $\lambda$ .

Part B shows the effect of variations of parameter values on the mean parasite burden ( $x$ ) and the host population size ( $N$ ):  $\alpha$  (death rate of host due to the parasite) influences, over a large range, only the mean parasite burden and not the host population, where the increase of  $x$  reduces the mean parasite burden.  $\theta h$  (the

product of the transmission rate and the parasite fecundity) moves  $N$  and  $x$  on a fixed line, where the increase of  $\theta h$  increases the mean parasite burden and decreases the host population size. This results was explained by the increase of the basic reproduction ratio of the parasites ( $R_0$ ).

Fig. 2 shows the marginal distributions of the posterior distribution for each parameter, compared with the prior distributions. The estimates of the mean values, the variance and some correlation coefficient of the distribution of the estimated parameters are reported in Table 3. Using these values we obtained the basic reproduction ratio ( $R_0$ ) equal to 2.4 and the threshold number of hosts required to continuously sustain the infection ( $N_T$ ) around 600 (Tab.4). In Table 5 the values of the increasing in mortality  $\alpha \cdot i$  (additive effect  $\mu_{tot}=\mu_{nat}+\mu_{prel}+\alpha \cdot i$ ) and reduction in fertility  $\xi^i$  (multiplicative effect  $\beta_{tot}=\beta_{nat} \cdot \xi^i$ ) related to different values of the mean parasite burden using the estimated values of  $\alpha$  and  $\xi$  are reported.

### 4. Discussion

One limitation to the use of mathematical models for studying the dynamical interaction among nematodes parasites and their wild host is that the estimate of most of the numerical values of their parameters require long-term studies on host demography and manipulative experiment to understand parasite induced effects (Gulland, 1992; Hudson *et al.*, 1992; Hudson *et al.*, 2002; McCallum & Dobson, 1995) that in many natural populations and ecosystems, like those of the Alps, they result difficult to be carried out.

**Tab. 2** - Patterns of the prior distribution of parameters

Parameters	Distribution	Min	Max
$\alpha$	Triangular	0	10-3
$\theta$	Uniform	10-5	10-3
$\xi$	Uniform	0.998	1
$\psi$	Uniform	0.3	1
Parameters	Distribution	Mean	Variance
$h$	Normal	500	1000
$\delta$	Normal	3	0.5
$\sigma$	Normal	6	2.5
$\lambda$	Log-normal	80	106

**Tab. 3** - Mean and variance of the posterior distributions of parameters. Correlation coefficients (R) of some pairs of parameters. Only correlation coefficients greater than 0.1 in absolute value are reported.

Parameters	Mean value	Variance
$\alpha$	1.02E-04	2.14E-09
$\theta$	1.22E-04	3.20E-09
$\psi$	0.57	3.87E-02
$h$	499.11	511.84
$\delta$	3.09	2.46E-01
$\sigma$	6.10	1.28
$\lambda$	756.36	7.49E+04
$\xi$	0.9998	1.64E-08
Pairs of parameters	R	
$\alpha, \theta$	0.12	
$\alpha, \xi$	0.66	
$\theta, \delta$	0.38	
$\theta, \sigma$	0.39	
$\theta, \psi$	-0.71	

Mathematical models can be used as exploratory tools to give a first estimate of some fundamental parasite population parameters and parameters regarding the host-parasite interaction using only few measures of parasitological and demographic variables of the population and simulating the relationship between parasite and host dynamics with the use of the model. This methods give an initial estimate for the values of parameters difficult to estimate empirically thus allowing a first approximation of the basic reproductive ratio  $R_0$  of the parasite and the threshold population density  $N_T$  necessary to continuously sustain the infection. These estimates, in absence of detailed empiri-

cal information, can provide an initial guidance for accept or exclude the hypothesis that macroparasites dynamics is related to the host dynamics allowing to take in account the potential relative impact of the parasite on the host, along with other ecological factors as climate and food shortage (Grenfell *et al.*, 1998). The empirical value of such parameters can be tested subsequently on the basis of population counts, necroscopic and parasitological examination on a sample of the population, along with experimental infections. As example, in the Table 4 different values of the mean parasite burden, were related to an increase in host mortality and reduction in

**Tab. 4** - Estimated values of the basic reproduction ratio ( $R_0$ ) and the threshold number of hosts required to continuously sustain the infection ( $N_T$ )

Parameters	Estimated value
$R_0$	2.4
$N_T$	603

host fertility. Such values appeared comparable with the parasitological data obtained from a sample of the populations under study at different time when variation in host fecundity and mortality rates were observed (Rizzoli, 1995; Rosà et al., 1997).

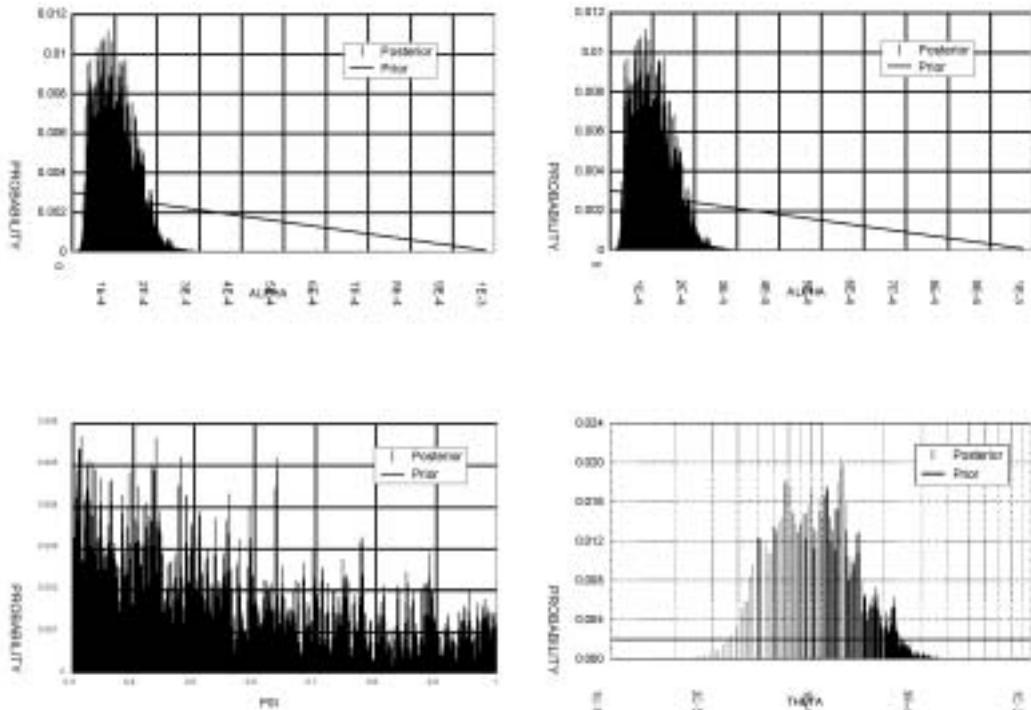
Moreover, after a posterior distribution has been obtained, new simulation can be performed by choosing parameter values randomly according to the posterior distribution; such simulations will yield an estimate of uncertainties in the forecast.

A second aim of these methods is to provide a starting point for empirical estimates of the parameters: if one expects, as example, the

value of  $\theta$  (the encounter rate between infecting larvae and hosts) to be around 0.0001, one would design an experiment to measure it differently (or would decide that such a measure would be altogether impossible) than if it were around 0.01. Via the sensitivity graphs (Fig 1), one can also see that a precise measure of some parameter is not needed if one is only interested in some variables of the model.

A third result of these estimates is to prove that the mathematical model is deficient at some stages: if the parameter values necessary to make the model compatible with data are completely different from empirical estimates, then something relevant is wrong with that model.

We illustrate these points, referring to our case study. When the posterior distribution is similar to the prior distribution (as it is for  $\psi$ ,  $h$ ,  $\delta$ ,  $\sigma$  in Fig 2), our procedure has not been useful in resolving uncertainties: our empirical data are not sufficient to discriminate the value of these parameters. On the other hand, when it is different (the case of  $\alpha$ ,  $\theta$ ,  $\lambda$  and, to some



**Fig. 2** – Marginal posterior distribution of the uncertain parameters according to the Bayesian updating method. The prior distribution of Box 4 was used. To evaluate the sum of squared deviations we used  $N=750$ ,  $\sigma_1=200$ ,  $x=700$ ,  $\sigma_2=200$ ,  $A=500$ ,  $\sigma_3=250$ . The other parameters were fixed at  $\beta=0.44$ ,  $\mu=0.23$  and  $N_K=1500$ .

**Tab. 5** - Some values of the increasing in mortality  $\alpha \cdot i$  (additive effect  $\mu_{tot} = \mu_{nat} + \mu_{prel} + \alpha \cdot i$ ) and reduction in fertility  $\xi_i$  (multiplicative effect  $\beta_{tot} = \beta_{nat} \cdot \xi_i$ ) related to different values of mean parasite burden ( $i$ ) using the estimated values of  $\alpha$  and  $\xi$  of Table 3. For comparison, fertility rate  $\beta_{nat}$  is 0.44, mortality rate  $\mu_{nat} + \mu_{prel}$  is 0.23 at population size  $N=1500$ .

Mean parasite burden ( $i$ )	$\alpha \cdot i$	$\xi_i$
500	0.05	0.9
1000	0.1	0.82
5000	0.5	0.37

degree,  $\xi$ ), the uncertainty has actually decreased: our new estimates (Table 3) can be a starting point for empirical studies.

Finally, one can compare the posterior distribution obtained for  $\lambda$  with some empirical estimates, obtained by Rosà et al. (1997), that estimate  $\lambda$  in the range 60-100. We must conclude that the model (1) can not account for the amount of aggregation measured in the chamois population: some other mechanism of generating aggregation must be considered.

This last point emphasises the difference between using this model and the classical model by Anderson and May (1978); in the latter, the aggregation is simply a parameter of the model while in our model aggregation is a dynamic variable; its value are predicted by the model on the basis of the parameter values, which are susceptible of independent measures. Thus, it become possible to falsify the model on the basis of small sample size and few empirical data.

## References

- ADLER F.R. & KRETZSCHMAR M. (1992) - Aggregation and stability in parasite-host models. *Parasitology*, 104: 199-205.
- ANDERSON R.M. & MAY R.M. (1978) - Regulation and stability of host-parasite population interactions. I. Regulatory processes. *J. Anim. Ecol.*, 47: 249-67.
- ANDERSON R.M. & MAY R.M. (1991) - *Infection diseases of humans. Dynamics and control*. Oxford university press.
- BARLOW N.D. (1995) - critical evaluation of wildlife disease models. In Grenfell b.t and dobson a.p. (eds.), *Ecology of infectious diseases in natural populations*. Ed??? 230-259.
- BLOWER S.M. & DOWLATABADI H. (1994) - Sensitivity and uncertainty analysis of complex models of disease transmission. *International statistical review*, 62: 229-243.
- DAMAGGIO M.L., RIZZOLI A., ROSÀ R., PUGLIESE A., IANNELLI M., MERLER S., ZAFFARONI E. & GENCHI C. (1996) - model for host-macroparasite dynamics in a managed wild ungulate population. In spagnesi m., Guberti g. And de marco m.a. (eds.), *Atti del i convegno nazionale di ecopatologia della fauna selvatica, suppl. Ric. Biol. Selvaggina*, xxiv: 27-52.
- GRENFELL B.T., PRICE O.F., ALBON S.D. & CLUTTON-BROK T.H. (1992) - Overcompensation and population cycles in an ungulate. *Nature*, 355: 823-826.
- GRENFELL B.T., & DOBSON A.P. (1995) - *Ecology of infectious diseases in natural populations*. Publications of the newton institute.
- GRENFELL B.T., WILSON K., ISHAM V.S., BOYD H.E.G. & DIETZ K. (1995) - Modelling parasite aggregation in natural populations: trichostrongylid nematode-ruminant interactions as a case study. *Parasitology*, 111: s135-s151.
- GRENFELL B.T., WILSON K., FINKENSTÄDT B.F., COULSON T.M., MURRAY S., ALBON S.D., PEMBERTON J.M., CLUTTON-BROCK T.H. & CRAWLEY M.J. (1998) - Noise and determinism in synchronised sheep dynamics. *Nature*, 394: 674-677
- GULLAND F.M.D. (1992) - The role of nematode parasites in soay sheep (*ovis aries* l.) Mortality during a population crash. *Parasitology*, 105: 493-503.
- GULLAND F.M.D. & FOX M. (1992) - Epidemiology of nematode infections of soay sheep (*Ovis aries* L.) On st. Kilda. *Parasitology*, 105: 481-492.
- HUDSON P.J, DOBSON A.P. & NEWBORND (1992) - Regulation and stability of a free-living host-parasite system: *Trichostrongylus Tenius* in red grouse. I. Monitoring and parasite reduction experiments. *J. Anim. Ecol.*, 61: 477-486.
- HUDSON P.J. & DOBSON A.P. (1995) - macroparasites: observed patterns. In Grenfell b.t and dobson a.p. (eds.), *Ecology of infectious diseases in natural populations*. Cabridger university press. 20-51.
- HUDSON P.J., RIZZOLI A.P., GRENFELL B.T., HEESTERBEEK H. & DOBSON A.P. (eds.) (2002) - *The ecology of wildlife diseases*. Oxford university press, oxford.
- MCCALLUM H. & DOBSON A.P. (1995) - Detecting disease and parasite threats to endangered species and ecosystems. *Trends in ecology & evolution.*, Vol.10 (5): 190-194.
- MC KAY M.D., CONOVER W.J. & BECKMAN R.J. (1979) - A comparison of three methods for selecting values of input variables in the analysis of output from a computer code. *Technometrics*, 21: 239-245.
- MICHEL J.F. (1970) - The regulation of population of ostertagia ostertagi in calves. *Parasitology*, 61: 435-47.
- PATWARDHAN A. & SMALL M.J. (1992) - Bayesian methods for model uncertainty analysis with application to future sea level rise. *Risk analysis*, 12: 513-

- 524.
- PUGLIESE A. & ROSÀ R. (1995) - A 2-dimensional model for macroparasitic infections in a host with logistic growth. *J. Biol. Syst.*, 3: 833-849.
- PUGLIESE A., ROSÀ R. & DAMAGGIO M.L. (1998) - Analysis of a model for macroparasitic infection with variable aggregation and clumped infections. *J. Math. Biol.*, 36: 419-447.
- RIZZOLI A. (1995) - *Indagini fisiopatologiche sui mammiferi selvatici dell'arco alpino orientale*. Ph.d. Thesis. Institute of veterinary general pathology and parasitology, university of milan.
- ROSÀ R., RIZZOLI A., PUGLIESE A., GENCHI C. & CITTERIO C. (1997) - *Models for macroparasitic infections of chamois (*Rupicapra Rupicapra* l.) In the brenta mountain group (Trentino, Italy)*. Internal report of the centre for alpine ecology, viote del monte bondone (Trento) Italy.
- SCOTT E. & SMITH G. (1994) - *Parasitic and infectious diseases*. Academic press.
- SMITH G. & GRENFELL B.T. (1985) - The population biology of *Ostertagia ostertagi*. *Parasitol. Today*, 3: 76-81.

# EFFETTI DELL'ABBATTIMENTO CONTROLLATO SULLA EVOLUZIONE DELLA VIRULENZA: IL CASO DELLA PESTE SUINA CLASSICA

De Leo G.A.\*, Guberti V.\*\*

\*Dipartimento di Scienze Ambientali, Università degli Studi di Parma, Parco Area delle Scienze, 43100 Parma, deleo@elet.polimi.it

\*\* Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica. Ozzano Emilia (Bologna), infsvete@iperbole.bologna.it

**Riassunto** - L'eradicazione della Peste Suina Classica nel Cinghiale è stata sempre tentata con il depopolamento. La densità soglia di estinzione per l'infezione nel cinghiale è estremamente bassa, tanto che è molto difficile, se possibile, raggiungerla attraverso la caccia o gli abbattimenti selettivi. Quando lo sforzo di depopolamento non raggiunge la densità soglia di estinzione del virus è probabile osservare una ripercussione a livello di virulenza dell'agente eziologico. Empiricamente la riduzione della densità, per un diminuito contatto tra infetti e recettivi, dovrebbe favorire la presenza di stipti virali a virulenza ridotta. Nel presente lavoro si è utilizzato un semplice modello SIR con due stipti virali a differente virulenza per simulare gli effetti causati da modificazioni della dinamica di popolazione dell'ospite. Quando il depopolamento raggiunge la densità soglia di estinzione per lo stipte a bassa virulenza entrambi i virus vengono eradicati. Ovviamente lo stipte a bassa virulenza permane nella popolazione con densità più basse rispetto a quello più virulento. In assenza di interventi lo stipte a maggior virulenza è l'unico in grado di persistere nella popolazione seppur a bassa prevalenza. A livelli medi di depopolamento entrambi gli stipti resistono nella popolazione, tuttavia, al lieve aumentare dello sforzo di depopolamento corrisponde un incremento della prevalenza complessiva. Tale situazione è determinata dal fatto che la riduzione dello stipte con maggior virulenza viene ampiamente compensata dal maggior incremento dello stipte a bassa virulenza, il tutto guidato da meccanismi densità ospite dipendenti. I risultati del modello suggeriscono che l'infezione nel cinghiale non deve essere contrastata con livelli insufficienti di depopolamento, che al contrario, complicano la lotta alla malattia.

**Abstract** - **Effect of host depopulation on parasite virulence evolution: the case of classical swine fever in wild boar.**

Eradication of classical swine fever in wild boar populations is usually attempted by host depopulation. The wild boar threshold density for the extinction of the infection is very low, and very rarely (if ever) can be reached by increasing hunting or culling. When the depopulation effort fails in reaching the threshold of extinction, a possible perturbation on virus virulence evolution can be observed. Empirically, the decreasing of the contact rates between infectious and susceptible animals will favour the less virulent strain. A SIR model coupled with two virus strains with different virulence has been used in order to evaluate the dynamic of virulence evolution according to the host population management. When depopulation reaches the host threshold density for extinction of the low virulent strain, both the strains fade out. Obviously the less virulent strain will survive at a lower host density than the high virulent one. In the absence of any intervention, only the most virulent strain will survive with a very low prevalence. At a medium level of depopulation both the strains survive. Surprisingly when a slight intensity of depopulation is applied the whole prevalence increases. The decreasing of the most virulent strain is overcompensated by the increase of the less virulent one. The latter spreads due to the relatively low host density resulting in an higher prevalence. If so, in the wild, depopulation should be accurately planned and performed exclusively when the host threshold density can reasonably reached.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 107- 118

## 1. Introduzione

L'interazione fra agente infettivo e i suoi ospiti è una delle più intime e complesse fra le varie relazioni interspecifiche. L'agente infettivo infatti dipende interamente dal suo ospite sia per l'accesso a risorse nutritive che per la trasmissione ad un altro ospite suscettibile nel suo ciclo di vita. D'altro canto, la presenza di un agente infettivo porta solitamente ad una riduzione della fitness dell'ospite attraverso una riduzione della sua sopravvivenza, fertilità, diminuzione del successo riproduttivo, alterazione del comportamento antipredatorio. Le conseguenze a livello evolutivo possono essere

molto importanti. Se infatti sono presenti diversi genotipi di un ospite e di un suo agente infettivo, e se i vari genotipi del parassita (ceppi geneticamente distinti) sono specializzati ciascuno su un particolare genotipo dell'ospite, allora in generale è il genotipo ospite più comune - quello più abbondante in un determinato momento - che soffre di più per l'attacco del parassita, in quanto la malattia si trasmette tanto più facilmente quanto più è abbondante l'ospite. Quando la densità del genotipo ospite più rappresentato diminuisce a causa dell'attacco dei parassiti che ne riducono la *fitness*, un altro genotipo ospite diventerà

dominante, ma - al contempo - anche più vulnerabile all'attacco della malattia. E così via, in quella che è stata definita una guerra evolutiva fra ospite e parassita, una guerra che vede succedersi nel tempo ceppi infettivi distinti e diversi genotipi ospite che da questi tentano di fuggire. Questi andamenti ciclici hanno una solida interpretazione teorica (Anderson & May, 1992), mentre le osservazioni di campo, se si esclude per il settore agricolo, sono invece decisamente rare. Ciò è dovuto essenzialmente alla forte asimmetria nei tempi generazionali fra ospite e parassita: la lunghezza di una generazione per gli ospiti, infatti, supera spesso di diversi ordini di grandezza quella dei parassiti. Pertanto, mentre su orizzonti temporali molto lunghi è possibile individuare addirittura un legame coevolutivo fra diverse specie di ospite e diverse specie di parassiti, su tempi brevi si può al più sperare di osservare cambiamenti nel genotipo del parassita volti favorire al massimo la diffusione della malattia. L'evoluzione della virulenza della myxomatosi del coniglio in Australia rappresenta sicuramente uno dei casi meglio documentati (Fenner, 1994). Nel 1950, in seguito all'introduzione di un ceppo molto virulento (fino al 99.8% di mortalità) del virus *Mymoma*, si selezionarono nel giro di un solo anno ceppi a diversa virulenza (Fenner & Ratcliffe, 1965). Questi ceppi vennero classificati in sei categorie di virulenza decrescente. Si poté così osservare che il ceppo a virulenza intermedia (Grado III, 90% di mortalità) era diventato in pochissimo tempo il più diffuso e rimase dominante per oltre 30 anni (Fenner, 1994). L'interpretazione di questo fenomeno è relativamente semplice (van Baalen & Sabelis, 1995): ceppi troppo virulenti uccidono l'ospite troppo velocemente prima di riuscire ad infettare altri ospiti suscettibili. Quelli poco virulenti sono tali proprio perché si riproducono lentamente all'interno dell'ospite; ne consegue che la loro diffusione nella popolazione è troppo lenta e i ceppi poco virulenti sono soppiantati dai più efficienti ceppi a virulenza intermedia, caratterizzati dal compromesso migliore fra velocità di riproduzione all'interno dell'ospite (virulenza) e velocità di trasmissione nella popolazione. Il problema dell'evoluzione della virulenza è di notevole rilevanza non solo un punto di vista strettamente teorico (Read, 1995), ma anche sanitario per le enormi implicazioni sulla salute umana (Wilson *et al.*, 1994). Molte malattie infettive e parassitarie che oggi vengono percepite come nuove o "emergenti" (Lyme disease, Hantavirus, Ebola,

ecc.) erano probabilmente presenti nell'ambiente già da molto tempo, se pur confinate in popolazioni animali in zone geografiche ristrette (Gibson, 1993). In seguito a pressioni evolutive legate tipicamente a cambiamenti climatici, ecologici e di uso del suolo, hanno trovato l'opportunità per saltare dal loro ospite originario all'uomo (Schrag & Wiener, 1995). Dati pubblicati sui siti WEB dell'Organizzazione Mondiale della Sanità ([www.who.org](http://www.who.org)) e del Centro di Controllo delle Malattie di Atlanta ([www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)) mostrano che le malattie infettive e parassitarie rappresentano ancora una delle principali cause di mortalità nei paesi in via di sviluppo, e continuano a diffondersi in maniera allarmante in seguito a una serie concomitante di fattori culturali, sociali e ambientali, quali l'impressionante crescita demografica, l'aumento della povertà, la malnutrizione, l'incremento della mobilità (Wilson *et al.*, 1994). Quello dell'evoluzione della virulenza è un problema che riguarda, se pur in modi diversi, anche i paesi industrializzati, Italia compresa. Si pensi ad esempio al problema del controllo della virulenza negli ospedali, oppure negli allevamenti intensivi di pesce, carne suina e pollame. Modelli teorici ed osservazioni sperimentali hanno mostrato chiaramente che un uso smodato di antibiotici o vaccini può portare in particolari condizioni alla selezione di ceppi infettivi resistenti alle più diffuse terapie di controllo (Björkman & Phillips-Howard, 1990; Anderson & May, 1992). Da qualche tempo, anche il problema della diffusione di patologie fra domestico e selvatico è al centro di aspre discussioni per le rilevanti conseguenze a livello economico e veterinario. L'Italia, come altri Stati Membri della Comunità Europea, deve fronteggiare un'epidemia di Peste Suina Classica (PSC) nel cinghiale di difficile eradicazione (Kaden 1998, Teuffert *et al.*, 1998). La PSC è una malattia a denuncia obbligatoria. Negli allevamenti intensivi l'individuazione di un solo caso infetto richiede lo *stamping out* di tutti gli animali dell'allevamento con danni economici enormi (Horst *et al.*, 1997). Non c'è da stupirsi quindi che, là dove si concentrano importanti attività industriali del settore alimentare legate alla produzione di carne suine, prosciutti e insaccati, la diffusione della PSC nel selvatico viene vista dagli allevatori con timore per il potenziale rischio di infezione del domestico (Bengis, 1997; Corso, 1997). Esistono pertanto fortissime pressioni per intervenire e bloccare la diffusione della malattia. Per il controllo e l'eradica-

zione della PSC nel selvatico sono stati proposti interventi ispirati essenzialmente a quelli usati negli allevamenti intensivi, cioè il *depopolamento* o *abbattimento controllato*. Semplici modelli teorici mostrano che è possibile eliminare un agente infettivo riducendo la densità della popolazione ospite al di sotto di una soglia critica detta di *eradicazione* (Anderson e May, 1992): al di sotto di questa soglia, infatti, la popolazione è così sparsa, rarefatta, che l'agente infettivo non è più in grado di persistere stabilmente e pertanto si estingue. L'applicazione di questa strategia al selvatico, tuttavia non è esente da critiche (Szent-Iványi, 1984). In particolare viene sostenuto (Guberti, 1991) che le battute di caccia aumentano la mobilità dei cinghiali, favorendo così la diffusione della malattia. Inoltre l'abbattimento preferenziale di individui adulti (che costituiscono i migliori trofei di caccia) può alterare la struttura d'età della popolazione a favore delle classi d'età giovani, le più suscettibili alla malattia. Inoltre le densità di soglia calcolabili in base ai parametri epidemiologici caratteristici sono così basse da essere difficilmente raggiungibili se non ha patto di uno sforzo di caccia irrealistico o realizzabile solo costi elevati (Guberti *et al.*, 1998). In pratica, non si riuscirebbe mai ad eradicare la malattia nel selvatico, ma solo a ridurre la densità dei cinghiali, favorendo però l'endemizzazione della malattia. Inoltre il crollo della densità dovuto al depopolamento potrebbe favorire la selezione di ceppi poco virulenti per il selvatico, ma ugualmente pericolosi per il domestico. Questi ceppi sarebbero in grado di persistere nella popolazione anche a densità particolarmente basse e costituirebbero una minaccia per il domestico, rendendo di fatto inefficace la politica di controllo basata sul depopolamento.

Questo lavoro si propone di analizzare se il depopolamento sia in grado effettivamente di selezionare ceppi a bassa virulenza capaci di persistere anche in una popolazione molto sparsa. L'approccio utilizzato è quello classico della dinamica delle popolazioni: viene considerata una popolazione di ospiti suscettibili attaccata da due ceppi dello stesso virus, uno a bassa e uno ad alta virulenza, in competizione fra loro per lo stesso ospite. Attraverso questo modello viene verificato se e come diversi livelli di abbattimento possono influire sull'equilibrio competitivo fra i due ceppi. È stata scelta la PSC per tarare i parametri demografici ed epidemiologici su un caso reale di rilevanza sanitaria. L'agente eziologico della PSC è un RNA virus (appartenente alla famiglia Togaviridae) e pertanto è caratterizzato da un tasso

di mutazione sufficientemente alto da generare una consistente variabilità genetica, come dimostrano diversi studi in questo campo (Stadejek *et al.*, 1997; Greiser Wilke *et al.* 1998, Hofmann & Bossy, 1998; Vilcek & Belak, 1998). È pertanto lecito supporre che gli ospiti possono reagire in maniera differente a ceppi geneticamente distinti capaci di esprimere diversa virulenza, come mostrato da Kosmidou *et al.* (1998) e da Vilcek & Paton (1998).

La Peste Suina Classica costituisce solo lo spunto iniziale di questo lavoro che per il momento ha obiettivi più generali. Infatti, in questa fase non si cerca di rappresentare con precisione questa o quella particolare patologia della fauna selvatica, quanto piuttosto di definire un modello teorico formale di carattere generale su cui verificare le conseguenze evolutive del depopolamento. Mentre l'effetto dell'uso di antibiotici sull'evoluzione della virulenza è largamente riconosciuto, è probabile che anche altre forme di manipolazione del sistema ospite-parassita possano alterare i delicati equilibri competitivi fra i diversi ceppi di un agente infettivo. Per questo motivo si è mantenuto intenzionalmente la struttura del modello al livello più semplice possibile, con lo scopo di analizzare un problema ben preciso, cioè se, e in che circostanze, l'abbattimento può influire sulla selezione di ceppi a diversa virulenza. Si è evitato di introdurre fattori, orpelli o abbellimenti che, a fronte di un maggiore realismo per questa o quella specifica patologia, avrebbero rischiato di far perdere di generalità al presente lavoro confondendo i risultati della nostra analisi.

## 2. Il modello epidemiologico

In questa sezione è presentato il modello epidemiologico per una popolazione di ospiti suscettibili all'attacco di un agente infettivo che si presenta in due forme o ceppi, un primo ceppo poco virulento e un secondo ceppo molto virulento. Si assume, come avviene tipicamente in questo ambito, che la virulenza sia misurata in termini di mortalità indotta dall'agente infettivo: di conseguenza, tanto più velocemente un agente patogeno uccide il proprio ospite, tanto più questo viene ritenuto virulento. Il modello epidemiologico generale è costruito di seguito per livelli successivi di complessità (Scott & Smith, 1994) a partire dalla descrizione della semplice dinamica di popolazione di un'ospite.

### 2.1. Dinamica dell'ospite in assenza di malattia

Si indichi con  $S$  la densità di ospiti suscettibili

nella popolazione. La dinamica della popolazione ospite in assenza dell'agente infettivo viene descritta dalla seguente equazione:

$$\frac{dS}{dt} = G(S) \quad (1)$$

dove con  $dS/dt$  si indica la variazione nell'unità di tempo del numero di ospiti, e con  $G(S)$  il reclutamento istantaneo, una funzione unimodale convessa, prima crescente con  $S$ , poi decrescente, e tale per cui  $G(0)=0$  e  $G(K)=0$ , dove  $K$  è la capacità portante della popolazione. I risultati della nostra analisi valgono per un'ampia classe di funzioni per  $G(S)$ ; tuttavia, senza perdere di generalità, assumeremo, per semplicità nella trattazione, che la popolazione di ospiti segua una dinamica di tipo logistico, ovvero:

$$G(S) = rS(1-S/K) \quad (2)$$

dove con  $r$  [tempo<sup>-1</sup>] si indica il tasso istantaneo di crescita a basse densità.

## 2.2. Il caso di una specie ospite attaccata da un solo agente infettivo

Quando è presente un solo agente infettivo (ad esempio il primo ceppo), la dinamica del sistema ospite-parassita può essere descritta dalle due seguenti equazioni:

$$\frac{dS}{dt} = G(S) - \beta_1 I_1 S \quad (3a)$$

$$\frac{dI_1}{dt} = \beta_1 I_1 S - (\alpha_1 + \mu) I_1 \quad (3b)$$

dove  $I_1$  rappresenta il numero di ospiti infettati dal primo ceppo,  $\beta_1$  [tempo<sup>-1</sup> num. ospiti infetti<sup>-1</sup>] è il coefficiente di trasmissione da infetto a suscettibile,  $\mu$  [tempo<sup>-1</sup>] il tasso di mortalità naturale di un ospite sano ( $1/\mu$  rappresenta la vita media attesa di un ospite sano), mentre  $\alpha_1$  [tempo<sup>-1</sup>] misura l'aumento di mortalità dovuta all'infezione. Pertanto  $1/(\mu + \alpha_1)$  rappresenta la vita media attesa di un ospite infetto di tipo 1. Si può dimostrare che l'agente infettivo è in grado di diffondersi stabilmente nella popolazione se e solo se:

$$R_o = \frac{\beta_1 K}{\alpha_1 + \mu} > 1 \quad (4)$$

$R_o$  viene detto capacità riproduttiva di base (basic reproductive number) e rappresenta il numero medio di infezioni secondarie generate dall'introduzione di un individuo infetto in una popolazione di  $K$  ospiti suscettibili. In alternativa, la relazione che garantisce la coesistenza di ospite e parassita si può esprimere nel modo seguente:

$$K > K_{T1} = \frac{\alpha_1 + \mu}{\beta_1} \quad (5)$$

ovvero, l'agente infettivo può diffondersi nella popolazione se e solo se la densità  $K$  di ospiti è superiore ad un valore minimo di soglia  $K_{T1}$ . Al di sotto di tale soglia, non ci sono abbastanza ospiti per sostenere l'agente infettivo nella popolazione. Si noti che, a parità del coefficiente di trasmissibilità ( $\beta_1$ ), è tanto più difficile eradicare la malattia quanto più è basso il tasso di mortalità indotta dal parassita  $\alpha_1$ . Ne consegue che è più difficile eradicare un ceppo poco virulento che uno molto virulento. Un agente patogeno poco virulento è infatti in grado di persistere anche in popolazioni molto sparse, uno molto virulento solo in popolazioni molto abbondanti. Se  $R_o > 1$ , si può dimostrare che dopo un certo tempo ospiti suscettibili ed ospiti infetti raggiungono un equilibrio stabile pari rispettivamente a:

$$S^*_1 = \frac{\alpha_1 + \mu}{\beta_1} = K_{T1} \quad (6a)$$

$$I^*_1 = \frac{G(S^*_1)}{\beta_1} \quad (6b)$$

## 2.3. L'abbattimento controllato per l'eliminazione di un solo agente infettivo

Il concetto di soglia critica definito nel paragrafo precedente ci permette di introdurre la politica di eradicazione basata sul depopolamento. L'idea alla base della strategia di depopolamento è quella di ridurre la densità della popolazione al di sotto della soglia di eradicazione attraverso la rimozione di un numero sufficiente di capi. Se indichiamo con  $c$  il tasso di abbattimento o di mortalità da caccia (*culling*), il modello risulta modificato nel modo seguente:

$$\frac{dS}{dt} = G(S) - (\beta_1 I_1 S - cS) \quad (7a)$$

$$\frac{dI_1}{dt} = \beta_1 I_1 S - (\alpha_1 + \mu + c)_1 \quad (7b)$$

Si assume in questo ambito che l'abbattimento colpisca indifferentemente ospiti infetti e ospiti suscettibili. Se fosse possibile valutare sul campo lo stato clinico dell'animale prima di abatterlo, si potrebbe pensare a forme di rimozione più selettive. In pratica, molte volte questo non è possibile e l'abbattimento viene esercitato indifferentemente su tutta la popolazione. E' possibile dimostrare che se il tasso di abbattimento  $c$  è sufficientemente alto, allora è possibile eradicare la malattia dalla popolazione. Una politica cautelativa è quella che impedisce radicalmente la diffusione della malattia nella popolazione. Si può dimostrare che questo è possibile quando:

$$c > c^* = (\alpha_1 + \mu) (R_0 - 1) \quad (8)$$

Se la popolazione è caratterizzata da dinamica logistica, per eradicare la malattia è tuttavia sufficiente che il tasso di abbattimento soddisfi la seguente relazione:

$$c > c_e = \frac{r}{r + \beta_1 K} = (\alpha_1 + \mu) (R_0 - 1) = \frac{r}{r + \beta_1 K} c^* \quad (9)$$

Si noti infatti che  $c_e$  è più piccolo di  $c^*$ . Questo significa che se si sceglie un tasso di abbattimento intermedio fra  $c_e$  e  $c^*$  ( $c^* > c > c_e$ ), la malattia può inizialmente diffondersi nella popolazione (generando ad esempio un picco epidemico), ma poi non riesce a persistere ed è quindi destinata ad estinguersi.

**2.4. Un ospite e due agenti infettivi a diversa virulenza**

Consideriamo infine il sistema completo, costituito da ospiti sani (suscettibili), ospiti infetti col primo ceppo (quello poco virulento) e ospiti infetti col secondo ceppo (quello molto virulento). Il modello epidemiologico che descrive la dinamica di questa popolazione è il seguente:

$$\frac{dS}{dt} = G(S) - [(\beta_1 I_1 S - \beta_2 I_2 S) - cS] \quad (10a)$$

$$\frac{dI_1}{dt} = \beta_1 I_1 S - [(\alpha_1 + \mu + c) I_1 - \beta_{1,2} I_1 I_2] \quad (10b)$$

$$\frac{dI_2}{dt} = \beta_2 I_2 S - [(\alpha_2 + \mu + c) I_2 - \beta_{1,2} I_1 I_2] \quad (10c)$$

dove:

- S: num. di individui suscettibili nella popolazione;
- I<sub>1</sub>: num. di ospiti infetti col primo ceppo (poco virulento);
- I<sub>2</sub>: num. di ospiti infetti col secondo ceppo (molto virulento)
- G(S): tasso istantaneo di crescita;
- c: tasso di abbattimento (*culling*);
- m: mortalità naturale;
- α<sub>1</sub>: mortalità indotta dal primo agente infettivo;
- α<sub>2</sub>: mortalità indotta dal secondo agente infettivo (α<sub>2</sub> >> α<sub>1</sub>);
- β<sub>1</sub>: coeff. di trasmissione da infetto di tipo 1 a suscettibile;
- β<sub>2</sub>: coeff. di trasmissione da infetto di tipo 2 a suscettibile;
- β<sub>12</sub>: coeff. di trasmissione da infetto di tipo 2 a infetto di tipo 1.

Si osserva in primo luogo che un ospite può abbandonare il comparto dei suscettibili (S) essenzialmente per tre ragioni: perché muore di mortalità indipendente dal parassita; perché entra in contatto con un ospite infetto col ceppo 1 e passa quindi nella classe I<sub>1</sub> (con un tasso pari a β<sub>1</sub>I<sub>1</sub>) o perché entra in contatto con un ospite infetto col ceppo 2 e passa quindi nella classe I<sub>2</sub> (con un tasso pari a β<sub>2</sub>I<sub>2</sub>). Un'attenzione particolare merita il termine di cross-infezione β<sub>12</sub>I<sub>1</sub>I<sub>2</sub> nelle equazioni (10b) e (10c): questo termine sta ad indicare che se un ospite infetto di tipo 1, cioè colpito già dal ceppo poco virulento, entra in contatto con un ospite infetto di tipo 2 (quello molto virulento), allora passa nella classe dei molto virulenti (I<sub>2</sub>) con probabilità proporzionale a β<sub>1,2</sub>. Questo fenomeno è noto in letteratura col nome di *super-infezione*. La giustificazione di questo fenomeno sta nel fatto che l'agente infettivo più virulento è tale proprio perché ha un tasso di riproduzione all'interno dell'ospite maggiore di quello del ceppo poco virulento: pertanto, se entrambi i ceppi sono presenti nello stesso ospite in un certo momento, è quello più virulento che prende il sopravvento sull'ospite perché si riproduce più velocemente. Questo meccanismo, che rappresenta ovviamente un caso limite ma significativo, si distingue da quello di co-infezione, in cui entrambi i ceppi possono coesistere almeno per un certo

tempo in un ospite infetto. E' ovviamente possibile rappresentare matematicamente anche questo meccanismo, ma il modello risulterebbe ancora più complesso per l'aggiunta di un'ulteriore equazione. Analisi preliminari mostrano che i risultati non sarebbero qualitativamente differenti da quelli riportati nel seguito, pertanto proseguiremo lo studio in base al modello (10).

### 2.5. Ipotesi ulteriori

E' opportuno specificare una serie di ipotesi ulteriori sui parametri del modello. In primo luogo, il fatto che il secondo ceppo sia più virulento del primo si traduce in termini formali nella relazione:

$$\alpha_2 \gg \alpha_1 \quad (11)$$

Quindi, la mortalità indotta dall'agente patogeno appartenente al secondo ceppo è più alta di quella indotta dal primo ceppo, ovvero la vita attesa di un ospite infetto di tipo 2 è più bassa di quella di un ospite infetto di tipo 1.

Sui coefficienti di trasmissibilità non è necessario imporre vincoli particolari: si può assumere che  $\beta_2$  sia uguale o anche superiore a  $\beta_1$ , in quanto la maggiore virulenza del secondo ceppo può tradursi in una maggiore facilità di trasmissione della malattia da un ospite infetto altamente viremico ad uno suscettibile. Comunque sia, nel seguito, per semplicità della trattazione, abbiamo assunto che la capacità riproduttiva del primo ceppo ( $R_{01}$ ) sia superiore a quella del secondo ( $R_{02}$ ), cioè che:

$$R_{01} = \frac{\beta_1 K}{\alpha_1 + \mu} > \frac{\beta_2 K}{\alpha_2 + \mu} = R_{02} > 1 \quad (12)$$

Questo significa che, se consideriamo i due ceppi isolatamente, la soglia di eradicazione per il primo ceppo ( $K_{T1}$ ) è più bassa di quella del secondo ceppo ( $K_{T2}$ ). In altri termini, è più difficile eradicare il ceppo 1 piuttosto che il ceppo 2 (quando isolati). Il modello (10) viene analizzato nella sezione successiva in funzione di diversi valori del tasso di superinfezione ( $\beta_{12}$ ) e di quello di abbattimento (c). L'analisi del modello viene presentata in due tempi. In primo luogo si verifica se, in assenza di abbattimento, è possibile la coesistenza dei due ceppi, e sotto che condizioni. Quindi, una volta verificata la possibilità di coesistenza, si utilizza il caso della peste suina classica per analizzare come l'abbattimento controllato possa alterare

questi equilibri competitivi fra i due ceppi e con che conseguenze.

### 3. Coesistenza o esclusione competitiva?

In questa sezione viene individuata la relazione fra i parametri del modello che garantisce la coesistenza dei due ceppi virulenti in assenza di abbattimento controllato. E' possibile distinguere due casi. Quando non c'è possibilità di super-infezione ( $\beta_{12}=0$ ), allora si può dimostrare che il ceppo con la maggiore capacità riproduttiva (cioè con maggiore  $R_0$ ) si diffonde nella popolazione ed elimina quello con la capacità riproduttiva inferiore. Nel nostro caso, dal momento che  $R_{01} > R_{02}$ , è il ceppo meno virulento (tipo 1) che vince sempre la competizione contro il ceppo più virulento (tipo 2) che viene così eliminato dalla popolazione. Il primo ceppo ha un vantaggio competitivo rispetto al secondo, in quanto è in grado di persistere in una popolazione molto sparsa ( $K_{T1} < K_{T2}$ ): infatti, proprio perché uccide il proprio ospite più lentamente del ceppo 2 ( $\alpha_1 \ll \alpha_2$ ), lo lascia in circolazione per un tempo sufficientemente lungo da infettare complessivamente un numero di ospiti suscettibili ( $R_{01}$ ) maggiore che il ceppo 2 ( $R_{02}$ ). In assenza di super-infezione, la selezione favorisce quindi i ceppi a bassa virulenza: i ceppi molto virulenti uccidono i loro ospiti troppo velocemente per essere competitivi.

Se invece esiste la possibilità di super-infezione ( $\beta_{12} > 0$ ), allora il risultato della competizione dipende dal valore effettivamente assunto dal coefficiente  $\beta_{12}$ . Per semplicità di notazione, si definisce:

$$\Delta K_T = K_{T2} - K_{T1}$$

e si ricorda che, in base alla (6),  $I^*_1$  e  $I^*_2$  sono le densità di ospiti infetti all'equilibrio rispettivamente di tipo 1 e di tipo 2, cioè:

$$I^*_1 = \frac{G(K_{T1})}{\beta_1} \quad \text{e} \quad I^*_2 = \frac{G(K_{T2})}{\beta_2}$$

E' possibile distinguere tre casi in base a valori crescenti del tasso di super-infezione  $\beta_{12}$ :

$$\text{- se } 0 < \beta_{12} < \frac{\beta_1 \Delta K_T}{I^*_1} \quad (13a)$$

vince ancora il ceppo 1 e il ceppo 2 si estingue

$$- \text{ se } \frac{\beta_1 \Delta K_T}{I_1^*} < \beta_{12} < \frac{\beta_2 \Delta K_T}{I_2^*} \quad (13b)$$

i due ceppi coesistono stabilmente nella popolazione

$$- \text{ se } \beta_{12} > \frac{\beta_2 \Delta K_T}{I_2^*} \quad (13c)$$

è il ceppo 2 che vince mentre il ceppo 1 si estingue.

Pertanto, la coesistenza di due ceppi a diversa virulenza è possibile solo se: *i.* c'è super-infezione; *ii.* e se il coefficiente  $\beta_{12}$  è sufficientemente grande (13 b). Inoltre è possibile dimostrare che la probabilità di coesistenza cresce anche al crescere della capacità  $K$  portante degli ospiti in assenza della malattia. Pertanto, alte densità di ospite (alti valori della capacità portante) favoriscono la diffusione di ceppi virulenti che altrimenti, a basse densità, non sarebbe capaci di persistere nella popolazione.

### 3. 1 Il caso della peste suina Classica

A questo punto possiamo finalmente analizzare come l'abbattimento controllato influisce sui processi competitivi fra due ceppi a diversa virulenza. L'analisi viene condotta con riferimento ad un caso realistico, quello della Peste Suina Classica in una popolazione di cinghiali della Sardegna Nord-Orientale (Guberti *et al.*, 1996; Guberti *et al.*, 1998). Il valore dei parametri demografici utilizzati è riportato in Tabella 1. Si assume che in assenza di malattia la popolazione raggiunge all'equilibrio una densità pari a 600 individui su un'area di 220 km<sup>2</sup>, corrispondente a 2.73 individui/km<sup>2</sup>. Il tasso istantaneo di crescita a basse densità pari a 0.5 [anni<sup>-1</sup>] a cui corrisponde un tempo di raddoppio della popolazione a basse densità pari a 2 anni. Il tasso di mortalità per un ospite sano è stato posto pari a 0.2 a cui corrisponde una speranza di vita media di 5 anni. Per quanto riguarda i parametri epidemiologici, si è assunto che la vita attesa di un ospite infetto dal primo ceppo sia pari a poco più di 70 giorni, e quindi  $\alpha_1 \approx 1/70$  [giorni<sup>-1</sup>]  $\approx 5$  [anni<sup>-1</sup>] e quella di un ospite infetto dal secondo ceppo pari a circa 24 giorni, per cui  $\alpha_2 \approx 1/24$  [giorni<sup>-1</sup>]  $\approx 15$  [anni<sup>-1</sup>]. I coefficienti di trasmissione riportati in Tabella 1 sono stati scelti in modo tale da produrre valori della capacità riproduttiva di base realistici e compatibili con le analisi di Guberti *et al.*, 1998, cioè  $R_{01}=4.6$  e  $R_{02}=2.37$ .

Purtroppo non sono disponibili stime dirette o indirette per il termine di super-infezione ( $\beta_{12}$ ).

Per comprendere appieno l'effetto potenziale dell'abbattimento controllato, ci mettiamo nel caso che noi riteniamo più significativo, cioè il (13c). Il coefficiente  $\beta_{12}$  viene quindi assunto pari a 0.84 in modo tale che in assenza di abbattimento sia il ceppo più virulento (il ceppo 2) a prevalere nella popolazione.

L'analisi epidemiologica viene quindi eseguita calcolando le densità di ospiti suscettibili e infetti di tipo 1 e 2 all'equilibrio al crescere del tasso di abbattimento  $c$ . Per semplicità, nel seguito lo sforzo di abbattimento verrà riportato in termini di percentuale annua di rimozione della popolazione. Per l'analisi numerica è stato utilizzato LocBif, un package per l'analisi delle biforcazioni.

Per comprendere al meglio l'effetto dell'abbattimento sulla competizione dei due ceppi, riportiamo prima le prevalenze degli infetti quando uno solo dei due ceppi è presente nella popolazione. In Fig. 1a) si vede che se solo il secondo ceppo è presente nella popolazione e non c'è abbattimento, la prevalenza all'equilibrio (frazione di individui infetti sulla popolazione) si assesta intorno al 2%. Al crescere dello sforzo di abbattimento la prevalenza diminuisce, prima molto lentamente e in seguito più velocemente fino a giungere all'eradicazione completa della malattia per sforzi di abbattimento superiori al 30% annuo, a cui corrisponde una soglia di estinzione pari a 1.13 individui/km<sup>2</sup>. In Fig. 1b) viene riportata la prevalenza all'equilibrio quando solo il ceppo di tipo 1 è presente nella popolazione. Come si vede la prevalenza risulta maggiore che nel caso precedente (4%). L'eradicazione completa della malattia richiede un maggior sforzo di abbattimento (38%) e la soglia critica di estinzione è pari a 0.67 individui/km<sup>2</sup>, cioè circa il 40% in meno che nel caso precedente.

Cosa succede quando entrambi i ceppi sono contemporaneamente presenti? Se lo sforzo di abbattimento è nullo, è il ceppo più virulento ad avere il sopravvento (Fig. 2a). La prevalenza complessiva è bassa (pari al 2%) in quanto solo infetti di tipo 2 sono in circolazione nella popolazione. Se si comincia ad abbattere animali, per bassi sforzi di rimozione è sempre il ceppo di tipo 2 a prevalere nella popolazione, ma quando lo sforzo di abbattimento supera il 5% annuo lo scenario cambia: la riduzione della densità di ospiti suscettibili infatti comincia a favorire il ceppo di tipo 1 che può pertanto coesistere col ceppo 2, se pur inizialmente a prevalenza molto bassa. In seguito, per sforzi di abbattimento superiori al 12% annuo, la frazio-

**Tab. 1** - I parametri demografici utilizzati nella simulazione. Questi valori si riferiscono ad una popolazione del Nuorese caratterizzata da una capacità portante di 600 cinghiali su un'area di circa 220 km<sup>2</sup> (Guberti *et al.*, 1996, Guberti *et al.*, 1998)

Parametro	Simbolo	Valore	Unità di misura
Capacità portante	K	600	# Individui su 220 km <sup>2</sup>
Tasso istantaneo di crescita	r	0.5	anni <sup>-1</sup>
Tasso di mortalità naturale	$\mu$	0.2	anni <sup>-1</sup>
Tasso di mortalità di un individuo infetto dal ceppo 1	$\alpha_1$	5	anni <sup>-1</sup>
Tasso di mortalità di un individuo infetto dal ceppo 2	$\alpha_2$	15	anni <sup>-1</sup>
Coeff. di trasmissione della malattia da infetto di tipo 1 a suscettibile	$\beta_1$	0.04	[# infetti tipo 1] <sup>-1</sup> anni <sup>-1</sup>
Coeff. di trasmissione della malattia da infetto di tipo 2 a suscettibile	$\beta_2$	0.06	[# infetti tipo 2] <sup>-1</sup> anni <sup>-1</sup>
Coeff. di trasmissione della malattia da infetto di tipo 2 a infetti di tipo 1.	$\beta_{12}$	0.84	[# infetti tipo 1] <sup>-1</sup> anni <sup>-1</sup>

ne di individui infetti di tipo 1 supera quella di tipo 2. Per sforzi di abbattimento maggiori del 24% annuo il ceppo di tipo di 1 diventa dominante e quello di tipo 2 viene eradicato dalla popolazione. Al crescere ulteriore dello sforzo di rimozione la prevalenza diminuisce fino ad arrivare all'eradicazione anche del ceppo di tipo 1, ma solo per rimozioni superiori al 38% annuo. E' interessante notare però che per valori intermedi dello sforzo di rimozione, la prevalenza complessiva cresce al cresce dell'abbattimento (Fig. 2b), invece di diminuire, come ci si aspetterebbe se invece un solo ceppo fosse presente nella popolazione (Fig.1a e 1b). Questo accade perché, con il progressivo depopolamento, prende man mano sopravvento il ceppo meno virulento, più efficace nel diffondersi e persistere in popolazioni sparse.

Le conseguenze da un punto di vista pratico gestionale sono importanti. Infatti, in presenza di super-infezione, il calcolo della soglia di eradicazione della malattia sulla base del ceppo dominante può riservare brutte sorprese. Infatti, in assenza di abbattimento, il ceppo prevalente è quello di tipo 2; questo è caratterizzato da una soglia di eradicazione relativamente alta (1.13 ind/km<sup>2</sup>) a cui corrisponde uno sforzo di abbattimento pari al 30% annuo. Pertanto, quando si esercita questo sforzo di abbattimento, si riesce effettivamente ad eradicare completamente il ceppo di tipo 2 (quello molto virulento), ma nel contempo si creano le condizioni favorevoli per la diffusione del ceppo di tipo 1 (quello meno virulento). Quel che è peggio è che, al nuovo equilibrio corrispondente al 30% di rimozione annua, la prevalenza sale al 4%, cioè a circa il doppio della prevalenza che si avrebbe senza intervenire (2%)! Questo tipo di politica risulta quindi non solo inefficace (non riesce ad eradicare la

malattia), ma addirittura controproducente, in quanto aumenta sia la prevalenza che l'abbondanza di infetti nella popolazione. Per arrivare alla completa eliminazione bisognerebbe spingere ulteriormente lo sforzo di abbattimento fino al 38% annuo con un conseguente aggravio dei costi. Analisi ulteriori ci hanno permesso di verificare che risultati qualitativamente identici si ottengono anche considerando modelli più realistici che includono esplicitamente una classe di individui (temporaneamente o permanentemente) immuni. I risultati ottenuti col generico modello (10) sono pertanto validi anche per una classe più ampia di modelli capaci di descrivere con maggiore dettaglio e realismo specifiche patologie.

#### 4. Conclusioni

Il presente lavoro suggerisce come il depopolamento può, almeno teoricamente, favorire la selezione di ceppi via via meno virulenti. Questo fenomeno ha come effetto quello di ridurre la soglia di estinzione dell'agente infettivo, o, il che è lo stesso, di aumentare lo sforzo di abbattimento necessario per eradicare completamente l'infezione. Se lo sforzo di abbattimento non è sufficientemente alto, è pertanto possibile che l'effetto di questa politica sia addirittura quello di aumentare la prevalenza (%) e il numero assoluto di individui infetti, ottenendo così il risultato opposto a quello desiderato. Lo sforzo di rimozione necessario per eradicare anche i ceppi meno virulenti può essere in pratica irrealistico, oppure realizzabile solo a costi molto alti. Questi risultati sembrano abbastanza robusti e insensibili a variazioni strutturali del modello.

Il messaggio finale di questo lavoro non è che il depopolamento influisce sempre ed inevitabilmente sulla selezione di ceppi a bassa virulenza

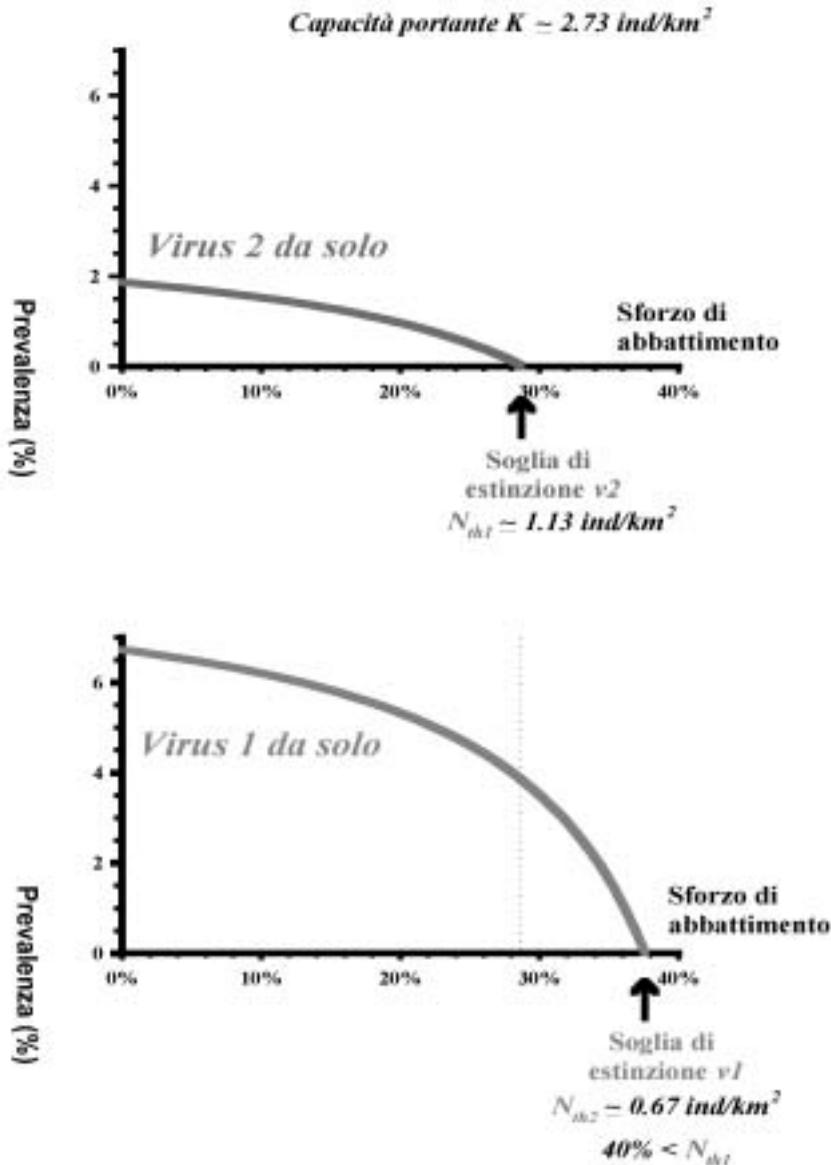


Fig. 1 – a) prevalenza di infetti di tipo 2 all’equilibrio in funzione dello sforzo di abbattimento  $c$  quando il solo ceppo 2 è presente nella popolazione. La malattia viene eradicata per sforzi superiori al 30%. La soglia di eradicazione corrispondente è pari a 1.13 cinghiali per  $\text{km}^2$ ; b) prevalenza di infetti di tipo 1 all’equilibrio in funzione dello sforzo di abbattimento  $c$  quando il solo ceppo 1 è presente nella popolazione. La malattia viene eradicata per sforzi superiori al 38%. la soglia di eradicazione corrispondente è pari a 0.67 cinghiali per  $\text{km}^2$ . La prevalenza del ceppo poco virulento è sempre superiore a quella del ceppo molto virulento per qualsiasi valore della sforzo di abbattimento

aumentando di conseguenza la prevalenza. Questo scenario si basa interamente sulla possibilità di cross-infezione: se per una particolare malattia si può escludere con certezza questa

possibilità, allora l’abbattimento controllato non può influire in alcun modo sulla selezione di ceppi a diversa virulenza (a meno che, naturalmente, non intervengano altri fattori che

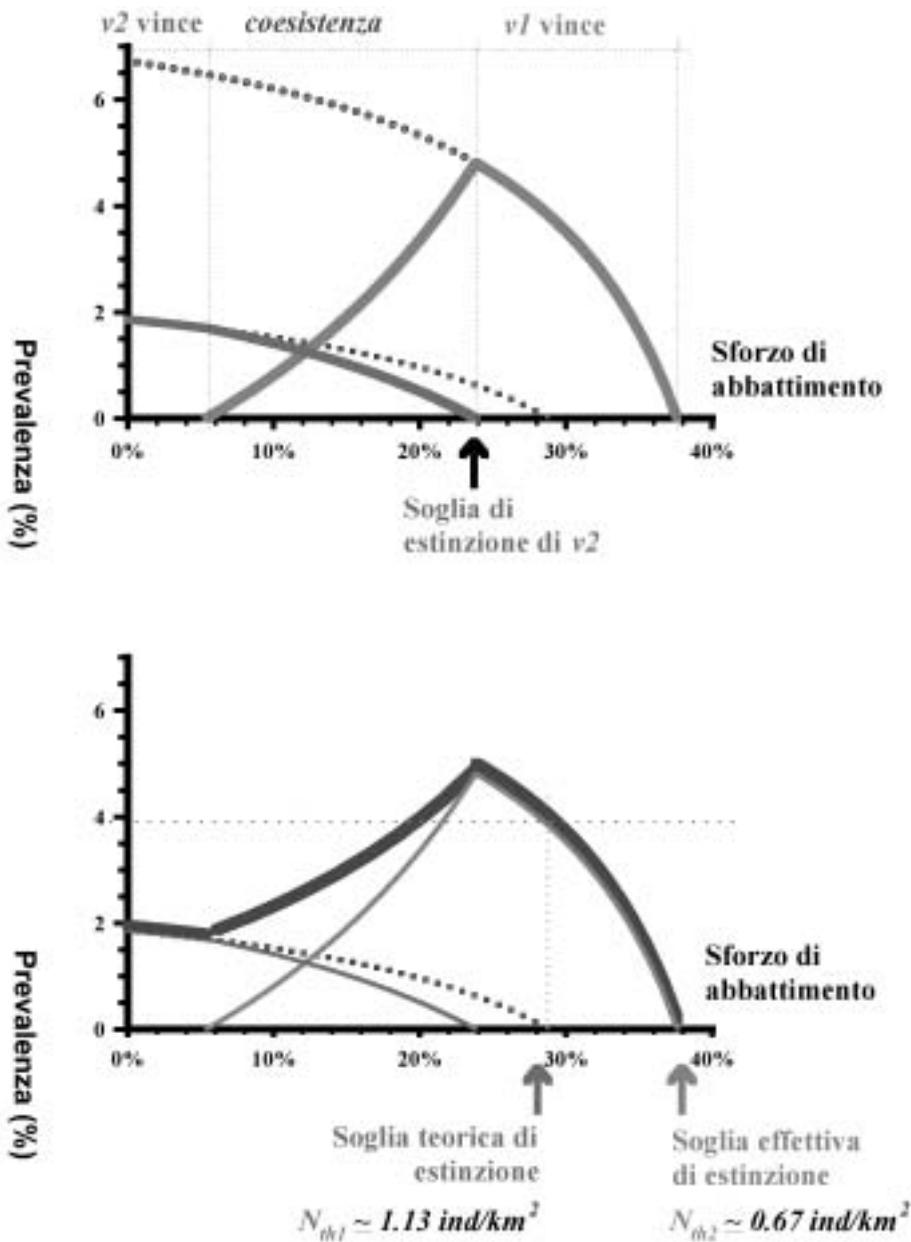


Fig. 2 – a) prevalenza di infetti di tipo 1 e di tipo 2 all’equilibrio in funzione dello sforzo di abbattimento  $c$  quando entrambi i ceppi sono inizialmente presenti nella popolazione; b) prevalenza complessiva di individui infetti nella popolazione in funzione dello sforzo di abbattimento  $c$ . Si vede che se si implementa lo sforzo di rimozione necessario per eradicare il ceppo virulento ( $c=30\%$ ), all’equilibrio la prevalenza risulta circa il doppio della prevalenza che si aveva originariamente senza intervento ( $c=0$ ).

qui ignorati). Pertanto, nel caso specifico della peste suina classica sarebbe quantomeno necessario valutare - attraverso opportuni test epide-

miologici in campo e in laboratorio (Greiser Wilke, 1998), ed eventualmente attraverso l’uso delle moderne tecnologie molecolari

(Vilcek & Belak, 1998; Vilcek & Paton, 1998) – se, nel corso di un'epidemia: 1) coesistono davvero ceppi del virus geneticamente distinti, come del resto mostrato da Stadejek *et al.* (1997) e Hofmann & Bossy (1998); 2) gli ospiti rispondono diversamente ai vari ceppi che esprimono quindi una diversa virulenza, fatto anche questo mostrato da Kosmidou *et al.* (1998). Se entrambe queste condizioni sono verificate, allora è possibile che, sotto opportune condizioni, la manipolazione della densità della popolazione ospite attraverso l'abbattimento controllato provochi la selezione di ceppi meno virulenti con le conseguenze a livello gestionale sopra evidenziate.

Se esiste il rischio di co-infezione o super-infezione, cosa si suggerisce per il controllo e l'eradicazione della malattia? Purtroppo, non esistono ricette sicure. Quello che appare chiaro è che, se non si riesce ad assicurare alti livelli di rimozione, intervenire può essere addirittura peggio che non far niente. Una possibilità attualmente in esame è quella di lasciare che l'infezione segua il suo decorso naturale. Infatti un'analisi preliminare dei transitori generati dal modello (10) mostra l'esistenza di oscillazioni molto ampie del numero di infetti, per cui a fase epidemiche molto pronunciate seguono fasi endemiche con prevalenze bassissime, matematicamente non nulle, ma biologicamente irrealistiche. E' pertanto possibile che queste oscillazioni, col concomitante sviluppo di immunità, portino ad una "naturale" estinzione dell'infezione in conseguenza di fluttuazioni casuali, un fenomeno ben noto nella letteratura anglosassone col termine di *endemic fade-out* (Anderson & May, 1992). D'altra parte, un intervento di depopolamento insufficiente non consentirebbe di eradicare l'agente infettivo, ma riuscirebbe solo a smorzare sensibilmente le oscillazioni, favorendo così l'endemizzazione della malattia.

## 5. Ringraziamenti

Giulio De Leo desidera ringraziare di cuore Enrico Zaffaroni, Annapaola Rizzoli e Paolo Lanfranchi per averlo coinvolto in queste tematiche. Vittorio Guberti ringrazia Domenico Rutili e Alberto Laddomada per le "interminate" discussioni riguardanti le sottili differenze tra pratica e teoria quando applicate alla gestione delle infezioni nella fauna selvatica.

## Bibliografia

ANDERSON, R.M. & R.M. (May 1992) - *Infectious Diseases of Humans: Dynamics and Control*. Oxford

- University Press, Oxford.
- BENGIS R.G. (1997) - Animal health risks associated with the transportation and utilisation of wildlife products. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties*, 16(1):104-110
- BJÖRKMAN A. & PHILLIPS-HOWARD P.A. (1990) - The epidemiology of drug resistance malaria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 84:177-180
- CORSO B. (1997) - Likelihood of introducing selected exotic diseases to domestic swine in the continental United States of America through uncooked swill. *Revue Scientifique et Technique de l'office International des Epizooties*, 16(1):199-206.
- FENNER F. & RATCLIFFE F.N. (1965) - *Myxomatosis*. Cambridge University Press, Cambridge.
- FENNER F. (1994) - Myxomatosis. In Scott, M.E. e G. Smith, *Parasitic and Infectious Diseases: Epidemiology and Ecology*. Academic Press, London. Pag. 337-346
- GIBBONS A. (1993) - Where are "new" diseases born? *Science*, 261: 6.
- GREISER WILKE I., DEPNER K., FRITZEMEIER J., HAAS L. & MOENNIG V. (1998) - Application of a computer program for genetic typing of classical swine fever virus isolates from Germany. *Journal of Virological Methods*, 75(2):141-150.
- GUBERTI V. (1991) - Fauna e patologie a denuncia obbligatoria: il caso della peste Suina Classica nel cinghiale in Toscana. *Supplemento alle Ricerche di Biologia e della Selvaggina*, XIX: 393-403.
- GUBERTI V., COSSU P., BOZZI F., CABRAS P., RUIU A., PIRINO A., MEREU G., BASSU M. & FIRINU A. (1996) - Aspetti demografici della popolazione di cinghiale nella provincia di Nuoro: effetti del modello di gestione. *I Convegno programmi di ricerca finalizzati degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali*. Istisan Congressi (46): 87.
- GUBERTI V., RUTILI D., FERRARI G., PATTÀ C. & OGGIANO A. (1998) - Estimate the threshold abundance for the persistence of the Classical Swine Fever in the wild boar population of the Eastern Sardinia, Italy. In: *Measure to control Classical Swine Fever in European Wild Boar*. European Union, Perugia, Italy 6-7 April 1998, Pp 54-61.
- HOFMANN, M. & BOSSY S. (1998) - Molecular epidemiological analysis of classical swine fever virus isolates from the 1993 disease outbreaks in Switzerland. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 140 (9): 365-370
- HORST HS., HUIRNE R.B.M. & DIJKHUIZEN A.A. (1997) - Risks and economic consequences of introducing classical swine fever into the Netherlands by feeding swill to swine. *Revue Scientifique et Technique de l'office International des Epizooties*, 16 (1) : 207-214
- KADEN V. (1998) - Classical swine fever in wild boars - situation in the European Community and selected aspects of transmission of the disease. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 111(6):201-207
- KHIBNIK A.I., KUZNETSOV YU. A, LEVITIN V. V. & NIKOLAEV E.V. (1993) - Continuation techniques

- and interactive software for bifurcation analysis of ODEs and iterated maps. *Physica D*, 62, 360-371.
- KOSMIDOU A., BUTTNER R. & MEYERS G. (1998) - Isolation and characterization of cytopathogenic classical swine fever virus (CSFV). *Archives of Virology*, 143(7):1295-1309.
- READ A.P. (a cura di) (1995) - Genetics and Evolution of infectious diseases in natural populations - Group report. Pag. 450-477 in Grenfell B.T. e A.P.Dobson (Eds.), *Ecology of Infectious Diseases in Natural Populations*, Cambridge University Press, Cambridge.
- SAATKAMP H.W., DIJKHUIZEN A.A., GEERS R., HUIRNE R.B.M., NOORDHUIZEN J.P.T.M. & GOEDSEELS-V (1997) - Economic evaluation of national identification and recording systems for pigs in Belgium. *Preventive Veterinary Medicine*, 30(2):121-135.
- SCOTT M.E. & SMITH G. (1994) - *Parasitic and Infectious Diseases: Epidemiology and Ecology*. Academic Press, New York.
- SCHRAG, S. J. & WIENER P. (1995) - Emerging infectious disease: what are the relative roles of ecology and evolution? *Trends in Ecology and Evolution*, 10:319-324.
- STADEJEK T., VILCEK S., LOWINGS JP., BALLAGIPORDANY A., PATON DJ. & BELAK S. (1997) - Genetic heterogeneity of classical swine fever virus in Central Europe. *Virus Research*, 52 (2) : 195-204
- SZENT-IVÁNKY T. (1984) - La peste porcine classique: nouvelles méthodes de prophylaxie et d'éradication. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 3:487:505.
- TEUFFERT J., KRAMER M. & SCHLUTER H. (1998) - The epidemiology of classical swine fever (CSF) in Germany under special consideration of the tasks of the veterinary practitioners. *Praktische Tierarzt*. 79(SI):45-49
- VAN BAALEN M. & SABELIS M.W. (1995) - The scope for virulence management: a comment of Ewald's view on the evolution of virulence. *Trends in Microbiology*, 3: 414.
- VILCEK S. & BELAK S. (1998) - Classical swine fever virus: Discrimination between vaccine strains and European field viruses by restriction endonuclease cleavage of PCR amplicons. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 39(3):395-400
- VILCEK S. & PATON D.J. (1998) - Application of genetic methods to study the relationship between classical swine fever outbreaks. *Research in Veterinary Science*, 65(1):89-90
- WILSON M.E, LEVINS R. & SPIELMAN A. (Eds.) (1994) - *Diseases in Evolution: Global Changes and Emergence of Infectious Diseases*. New York Academy of Science, New York

# ANIMALI SELVATICI E ZONOSI: ASPETTI DI INTERESSE PRATICO PER GLI OPERATORI DEL SETTORE IN RELAZIONE AL RISCHIO BIOLOGICO

Garbarino C.\*, Fabbi M.\*\* , Loli Piccolomini L.\*\*\*

\* Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e della Emilia Romagna, Sezione diagnostica di Bergamo - viale Venezia 8/A - 24100 - Bergamo

\*\* Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e della Emilia Romagna, Sezione di Pavia

\*\*\* Veterinario libero professionista

**Riassunto** - Alcune categorie professionali sono esposte al rischio di contrarre zoonosi trasmesse da animali selvatici o in conseguenza dell'ambiente nel quale si trovano ad operare o per il tipo di attività svolta, che comporta il contatto con animali selvatici, carcasse o parti di esse. Queste categorie rientrano pertanto tra le categorie soggette a rischio biologico come definito dal D.L.vo 626/94, recepimento delle Direttive CEE riguardanti la sicurezza dei lavoratori. Il veterinario può fornire indicazioni utili per una corretta valutazione di tale rischio, obbligatoria per il datore di lavoro in seguito all'entrata in vigore del decreto stesso. Scopo del presente lavoro è fornire uno schema sintetico di valutazione del rischio biologico professionale in ambito silvestre e fornire informazioni pratiche per la riduzione del rischio di zoonosi per gli operatori del settore. Vengono quindi descritte le operazioni a rischio e le corrispondenti malattie che possono essere contratte. Viene fornita una tabella nella quale per ogni malattia vengono indicati: gli animali che possono contrarre l'infezione e che possono essere responsabili della trasmissione diretta o indiretta all'uomo; il materiale infettante fonte di trasmissione; le vie di contagio per l'uomo; la resistenza dell'agente patogeno; i disinfettanti ritenuti più idonei da utilizzare. La riduzione al minimo del rischio rappresenta l'obiettivo fondamentale del D.L.vo 626/94 e si basa per questo tipo di attività, essenzialmente sulla formazione professionale. Nel presente lavoro vengono proposte anche alcune indicazioni comportamentali di semplice attuazione per la riduzione del rischio.

**Abstract - Wildlife and zoonoses: some information for professional categories with potential biological risk.** Some professional categories are exposed to the risk of contracting zoonoses transmitted by wild animals as a consequence of the environment where they work or because of jobs that involves contact with wild animals, carcasses or parts of them. These professional categories are included in the categories that are exposed to biological risk. In Italy there is a national law receiving the indications of European Community legislation about safety of workers. Veterinarians can give useful indications for a proper evaluation of this risk. With the enforcement of these laws, this evaluation becomes a duty for the employer. The aim of this work is to give a brief outline for the evaluation of the biological hazard for the categories working in wildlife environments and to give practical information in order to reduce the risk of zoonoses. Operations at risk and the diseases that can be contracted are described. A table with the following information for each disease is presented: the species that can transmit directly or indirectly the disease; the material that can be a source of transmission; the ways of transmission; the microorganism resistance in the environment; the suitable disinfectant. The law aims to reduce the risk of zoonoses in these activities, therefore a proper information is essential. Furthermore, in this work we wish to give some indications of correct behaviour very easy to apply and essential for the reduction of the risk.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 119- 123

## 1. Introduzione

Le malattie infettive degli animali selvatici rivestono importanza non solo per le stesse popolazioni di selvatici, ma anche per le possibili interazioni con gli animali domestici e con l'uomo, costituendo talvolta un problema di sanità pubblica. Nell'ambito di una più ampia e generica categoria di persone "a rischio" di contrarre zoonosi silvestri (cacciatori, naturalisti, turisti) si individua un gruppo per cui il rischio è in relazione alla professione svolta (forestali, veterinari ispettori di selvaggina, ricercatori e altre figure professionali). Il Decreto Legislativo 19 settembre 1994, n.626

(Attuazione delle direttive 89/391/CEE, 89/654/CEE, 89/655/CEE, 89/656/CEE, 90/270/CEE, 90/394/CEE e 90/679/CEE riguardanti il miglioramento della sicurezza e della salute dei lavoratori sul luogo di lavoro), tratta ampiamente il rischio legato ad agenti biologici, compresi quelli responsabili di zoonosi ed evidenzia come "le attività nelle quali vi è contatto con animali e prodotti di origine animale" rientrino tra quelle che comportano l'esposizione a questo tipo di rischio. Tale decreto inoltre obbliga il datore di lavoro ad effettuare e documentare una valutazione del rischio e ad adottare le misure necessarie per ridurlo al

minimo. A tal fine compito del datore di lavoro è la formazione e l'informazione professionale. Questo lavoro vuole essere la proposta di un metodo per dare indicazioni utili dal punto di vista pratico al fine di ridurre il rischio biologico per chi frequenta l'ambiente silvestre per professione. Viene fornito un elenco delle situazioni a rischio ed uno schema sintetico di valutazione del rischio biologico e delle misure di prevenzione e protezione che possono essere utilizzati nel corso di programmi di formazione professionale. Lo schema fornito è un esempio che deve chiaramente essere adattato alle singole realtà locali; infatti i rischi ipotetici da prevenire sono direttamente correlati al tipo di animali presenti in una determinata area ed alla situazione epidemiologica contingente (zoonosi più diffuse, zoonosi emergenti). L'elenco proposto non tiene conto della rilevanza delle singole zoonosi e non è esaustivo. Inoltre non vengono prese in considerazione le zoonosi prettamente alimentari (es. trichinellosi) perché il rischio di contrarle non è legato alla professione svolta.

## 2. Situazioni a rischio e valutazione del rischio biologico

Le seguenti situazioni sono considerate a rischio per gli operatori del settore:

- raccolta/manipolazione consapevole o meno di materiale organico (carcasse, feci, aborti, urine, sangue ecc.);
- perlustrazioni ed attività in boschi;
- autopsie;
- contatto con animali vivi (soccorso ad animali, catture ecc...);
- attraversamento acqua stagnante;

In tabella 1 si riporta lo schema di valutazione del rischio biologico. Lo schema è basato su informazioni tratte da Lodetti (1986), Acha & Szyfres (1989), Giannini (1993), Benazzi (1994), Farina & Scatozza (1995), Lodetti & Massirio (1996), Kopcha & Bartlett (1997).

## 3. Discussione e Conclusioni

L'elenco delle situazioni a rischio e la tabella forniscono "all'utente" informazioni indispensabili: si deduce che il rischio di contrarre zoonosi non è necessariamente collegato alla diretta manipolazione di animali e può esserci contaminazione indiretta tramite vettori, oggetti e l'ambiente contaminato; inoltre nella maggior parte dei casi il corretto utilizzo di Dispositivi di Protezione Individuale (D.P.I., così definiti i mezzi di protezione dallo stesso D.l.vo 626/94) ed un adeguato comportamento sono sufficienti

ti a contenere il rischio; per questo la dotazione di tali dispositivi deve essere associata ad un serio programma di formazione professionale.

I D.P.I. che devono venire forniti sono guanti e mascherine, di più facile gestione se monouso; inoltre deve venire suggerito e per alcune professioni, che richiedono una divisa già viene anche fornito (guardie provinciali ecc...), un abbigliamento idoneo che di per se in parte protegge (es. evitare canottiere e pantaloni corti). Per quanto riguarda il comportamento corretto si deduce dalle informazioni contenute nella tabella e si può riassumere nei punti di seguito elencati:

- evitare di mangiare e/o fumare in prossimità di materiale potenzialmente patologico;
- curare l'igiene e disinfezione di corpo e vestiario;
- se venuti a contatto con materiale organico (schizzi ecc...) lavarsi subito e disinfettarsi;
- al ritorno da escursioni ispezionarsi il corpo con cura per evidenziare eventuali zecche;
- utilizzare repellenti per insetti in zone di epidemia di malattie da essi veicolate;
- in zone riconosciute endemiche per determinate patologie ove possibile ricorrere a vaccini (rabbia, encefalite da zecche ecc...);
- in caso di malori consultare il medico e sottolineare che lavoro si svolge e se ci sono state situazioni di pericolo;

Altri dati forniti dalla tabella sono la "resistenza dell'agente patogeno" ed "i disinfettanti più idonei nei suoi confronti": sono informazioni che assumono utilità, in special modo in caso di epidemie in popolazioni di animali selvatici di cui sia diagnosticato l'agente eziologico sia per la tutela della categoria professionale coinvolta che per la tutela dell'ambiente esterno comprese altre specie di animali presenti sul territorio e per la tutela delle persone che vivono in quella zona o che la frequentano. Il rischio di contaminazione può essere contenuto tramite efficaci disinfezioni di materiali ed ambiente.

Viene ribadito che per una migliore definizione dei potenziali rischi nelle diverse zone è necessaria la conoscenza del territorio, delle popolazioni di animali presenti e della situazione sanitaria delle stesse; indagini epidemiologiche che forniscono questi dati consentono di ridurre le informazioni da dare e concentrare l'attenzione su quelle zoonosi che costituiscono un rischio effettivo. Per questo tipo di indagini e per la conoscenza tempestiva di problemi sanitari nella fauna selvatica è indispensabile la collaborazione tra i diversi settori in particolare con

**Tab. 1** - Schema di valutazione del rischio biologico

Malattie	Specie potenzialmente colpite	Materiale infettante	Via di contagio per l'uomo	Resistenza dell'agente patogeno	Disinfettanti ritenuti più idonei
Brucellosi <i>B. abortus</i> <i>B. melitensis</i>	Ungulati selvatici (Suidi, Bovidi, Cervidi) Leporidi Roditori selvatici	contatto con tessuti infetti (feti, placente, carcasse), sangue e liquidi organici	cute anche integra e aerosol	notevole all'essiccamento (42 gg in polvere da strada) ed alla putrefazione; debole alla luce solare diretta, al freddo ed ai comuni agenti chimici	concentrazioni elevate e per esposizioni prolungate di: gluteraldeide, formalina e sue soluzioni saponose, idrato sodico, ionofori, clo rocesoli e fenoli sintetici disinfettanti per mani: 1%cloramina 0,5% soda caustica
Carbonchio ematico <i>Bacillus anthracis</i>	Erbivori selvatici	contatto con spore da carcasse, sangue, liquidi organici	aerosol, ferite	notevolissima verso tutti gli agenti di disinfezione ed al calore a causa delle spore	idrato sodico, gluteraldeide, formalina e sue soluzioni saponose, miscela di Laplace°; contro le spore: diidrato di cloroisocianurato sodico, formaldeide al 4%, gluteraldeide 2-3%, acido peracetico
Clamidiosi <i>Chlamydia</i> spp.	Uccelli selvatici, Ungulati selvatici	materiale infetto quale materiale di origine congiuntivale, polmonare, intestinale, genitale	aerosol	variabile: nelle feci essiccate alcuni mesi, bassa ad alte temperature (10 minuti a 60°) alta a basse temperature (rinvenuta in carni congelate a -70° dopo 372 gg)	disinfettanti fenolici, aldeidi, alcali, composti di cloro e iodio, perossido di idrogeno, sali quaternari di ammonio
Febbre Q <i>Coxiella burnetii</i>	Roditori selvatici, Uccelli selvatici, Ungulati selvatici	deiezioni, latte, placente, altri liquidi organici, ectoparassiti	aerosol, zecche	notevole ai comuni disinfettanti, in ambiente esterno notevole a basse temperature (a - 20° 4 mesi)	formalina 2%, etere etilico 5%, perossido di idrogeno 5%
Encefalite da zecche <i>Flavivirus</i>	Ungulati selvatici, Roditori selvatici	Zecche ( <i>Ixodes ricinus</i> )	puntura di zecche	informazione non utile considerata la via di trasmissione	informazione non utile considerata la via di trasmissione
Leptospirosi <i>Leptospira</i> spp.	Roditori selvatici, Riccio, Ungulati selvatici, Volpe	visceri, sangue, urina, liquidi organici, acqua contaminata da urina	contatto con escoriazioni cutanee, mucose orali, nasali e congiuntivali aerosol	resistente in ambienti umidi, non resiste all'essiccamento	comuni disinfettanti, cloro

Malattie	Specie potenzialmente colpite	Materiale infettante	Via di contagio per l'uomo	Resistenza dell'agente patogeno	Disinfettanti ritenuti più idonei
Malattia di Lyme <i>Borrelia burgdorferi</i>	Roditori, Ungulati selvatici	Zecche ( <i>Ixodes ricinus</i> )	puntura di zecche	informazione non utile considerata la via di trasmissione	informazione non utile considerata la via di trasmissione
Mal rosso <i>Erysipelothrix Rhusiopathiae</i>	Uccelli selvatici, Volpe, Cinghiale	liquidi organici, sangue, parenchimi	cute in particolare se lesionata	notevole verso tutti gli agenti naturali, fisici e chimici	idrato sodico, carbonato sodico, soluzione saponosa di formalina, derivati clorici, cresoli
Micobatteriosi <i>Micobacterium bovis</i> , <i>M. tuberculosis</i> , <i>M. avium</i> ecc...	Mammiferi e Uccelli selvatici a seconda dei micobatteri interessati	materiale infetto a seconda della localizzazione dei micobatteri: polmonare, gastroenterica, ossea ecc...	ferite, ingestione, inalazione	notevole verso tutti gli agenti naturali, fisici, chimici	Gluteraldeide, formalina e sue soluzioni saponose, ofenilfenolo, miscela di Laplace <sup>o</sup>
Pseudotubercolosi <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	Lepre, Uccelli selvatici (segnalata in Piccione, Pernice, Fagiano)	organi infetti	stretto contatto tra materiale infettante (polmoni, fegato) e ferite ingestione di materiale contaminato	Alta in ambiente esterno, si moltiplica a basse temperature	comuni disinfettanti
Rabbia <i>Rhabdovirus</i>	Mammiferi selvatici	sistema nervoso centrale, sangue, liquidi organici	morso, contatto ferite con materiale infetto	notevole all'essiccamento, alla putrefazione ed al freddo; debole al calore ed ai comuni agenti chimici	comuni disinfettanti
Salmonellosi <i>Salmonella</i> sp.	Mammiferi selvatici e Volatili selvatici	feci, in forme setticemiche carcasce e parti di esse	ingestione di materiale contaminato	notevole all'essiccamento, debole al calore, debole verso i comuni agenti chimici	comuni disinfettanti
Tularemia <i>Francisella tularensis</i>	Lagomorfi e Roditori selvatici	tessuti infetti, sangue e liquidi organici	cute anche integra ed aerosol	sopravvive fino a 15 mesi nelle acque e nel fango, 4 mesi nelle carcasce di animali morti, 25 gg all'essiccamento, è termolabile	non reperite indicazioni
Yersiniosi <i>Yersinia enterocolitica</i>	Lepre, Ungulati selvatici	Feci	stretto contatto tra materiale contaminato (feci) e ferite, ingestione di materiale contaminato	Alta resistenza in ambiente esterno, si moltiplica a basse temperature	comuni disinfettanti

<sup>o</sup> Miscela di Laplace 5%: mescolare lentamente acido fenico grezzo e acido solforico in parti uguali; diluire la miscela mettendone 50 cc per ogni litro di acqua

le categorie che per professione sono presenti sul territorio, quelle stesse a cui la formazione professionale é rivolta.

### **Bibliografia**

ACHA P.N. & SZYFRES B. (1989) - Office International des Epizooties: Zoonoses et maladies transmissibles communes a' l'homme et aux animaux. Deuxieme edition.

BENAZZI P. (1994) - Il Regolamento di Polizia Veterinaria - Societa' Editrice Esculapio.

Farina R. & Scatozza F. (1995) - Malattie infettive degli animali, UTET.

Giannini P. (1993)- Trattato di malattie infettive - Edizioni Minerva Medica .

Kopcha M. & Bartlett Paul C. (1997) - Important zoonoses from direct contact with livestock - Veterinary Medicine : 370-373.

Lodetti E. (1986) - Notizie pratiche sulle principali zoonosi- Selezione Veterinaria , Vol. XXVII

Lodetti E. & Massirio I. (1996) - La difesa sanitaria degli allevamenti: dinamica concettuale (disinfezione, prevenzione, bonifica ed eradicazione) - 2 febbraio 1996, Lezione tenuta presso la Scuola di Specializzazione in Sanità Pubblica Veterinaria presso la Facoltà di Medicina Veterinaria di Milano.



# ARE RODENTS A POTENTIAL RESERVOIR FOR *LEISHMANIA INFANTUM* IN ITALY?

Di Bella C.\*, Vitale F.\*, Russo G.\*, Greco A.\*, Milazzo C.\*\*, Aloise G.\*\*, Cagnin M.\*\*

\* Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia "A. Mirri", Via Rocco Dicillo 4, 90129 Palermo, Italy

\*\* Università della Calabria, 87030 Arcavacata di Rende, Cosenza, Italy

**Abstract** - Surveys carried out in Southern Italy (Calabria and Sicily) aiming to analyse zoonoses, which occur in wild rodent populations, revealed the presence of *Leishmania* sp. antibodies in murine sera. Polymerase chain reaction (PCR) analysis has revealed *L. infantum*. Capture-Marking-Recapture (CMR) and the Removal Method using "Havahart" live traps, have been performed to estimate wild rodent population in an area of about one hectare. Prevalence of infections has been calculated considering the real population density of the studied species. Research has revealed that the *Rattus rattus* population living in Fiumefreddo Bruzio (Cosenza) (estimated population density = 22.2 rats per ha; CMR Method) had 57.5% of serological and 45% of PCR positiveness; while a *R. norvegicum* population living in a green area (Villa Niscemi) in the city of Palermo (estimated population density = 12.75 rats per ha; Removal Method) had 33.3% of serological positiveness. Results allow us to suppose the presence of new reservoirs in the examined areas. More research is needed in order to confirm this hypothesis.

**Riassunto** - Durante alcune indagini effettuate in Italia Meridionale (Calabria e Sicilia) sulla presenza di infezioni a carattere zoonosico in popolazioni di roditori, i sieri di alcune specie murine sono stati sottoposti ad analisi per la ricerca di anticorpi nei confronti di *Leishmania* sp.. Sono state effettuate catture con trappole "live" tipo "Havahart" utilizzando il metodo Cattura-marcaggio-ricattura o la Rimozione totale per la stima della densità di popolazione in una superficie di circa un ettaro. Le indagini hanno rivelato per la popolazione di *Rattus rattus* di Fiumefreddo Bruzio (Cosenza) (densità stimata = 22.2 ratti per ha; metodo CMR) una sieropositività del 57.5% e del 45% di positivi alla PCR; invece per la popolazione di *R. norvegicum* di Villa Niscemi, a Palermo (densità stimata = 12.75 ratti per ha; Rimozione Totale) è stata riscontrata una sieropositività del 33.3%. Ulteriori analisi effettuate con metodica PCR (Polymerase chain reaction) hanno permesso di identificare *L. infantum* per la popolazione di *R. rattus* di Fiumefreddo Bruzio. I risultati ottenuti permettono di ipotizzare la presenza di nuovi reservoirs nelle aree esaminate, tuttavia ulteriori indagini dovrebbero essere effettuate per confermare tale ipotesi.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 125 - 129

## 1. Introduction

The study of the two forms of visceral and cutaneous leishmaniasis, which can be found in the Mediterranean area, identified in dogs the most important reservoir for visceral leishmaniasis from *Leishmania infantum* (Acha & Szyfres, 1989). Some authors have, however, suggested the possibility that other animals, such as Red fox *Vulpes vulpes* and rodents, might be involved in the epidemiological cycle of the protozoan (Ashford & Bettini, 1987). Moreover, it is a well know fact that rodents play a reservoir role in other world areas for other taxa of *Leishmania* (Cox, 1993). In particular, the Black Rat (*Rattus rattus*) is claimed to be a possible reservoir of *L. infantum* in Italy, Spain and Saudi Arabia (Gradoni *et al.*, 1983; Agrimi & Mantovani, 1995). Petrovic *et al.* (1978) reports the presence of infections from *L. donovani infantum* in *R. rattus* and *R. norvegicus* in some areas of former Yugoslavia. Although some investigations in Italy have allowed to study in depth the relationships between some murine

species and *L. infantum*, their role concerning visceral leishmaniasis is nevertheless unclear (Agrimi & Mantovani, 1995).

Here we present some results of a Research Project, entrusted to the "Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia" by the Ministero della Sanità, concerning the role played by same species of micromammals in maintaining and spreading some important zoonoses.

## 2. Methods

Surveys were carried out in Southern Italy: a rural area in Fiumefreddo Bruzio, near Cosenza (Calabria) and a garden, Villa Niscemi, in the urban area of Palermo (Sicily), where wild rodent populations have been analysed.

Captures have been carried out using Longworth or Havahart traps in September (Fiumefreddo Bruzio) and December (Palermo) 1997. Capture-Marking-Recapture (Meunier & Solari, 1979) or Removal methods (Seber & Le Cren, 1967) have been used in order to obtain density values.

The presence of *Leishmania* sp. antibodies in the murine sera has been investigated. Serological analysis has focused on populations of *Rattus norvegicus* (Villa Niscemi, Palermo), and of *Rattus rattus* (Fiumefreddo Bruzio, Cosenza). Occasional captures of *Mus musculus* were carried out in Villa Niscemi and Fiumefreddo Bruzio areas, and of *Rattus rattus* in Villa Niscemi too, but no data about density has been collected. Sample size of the studied population guaranteed to find, at least, one positive case, considering a prevalence of 2%, with 99% confidence limits (Canon & Roe, 1982). For this reason we have almost analysed the same number of sera of the captured animals of which population density was estimated.

*Leishmania* antibodies have been searched thanks to an indirect immunofluorescence technique on 10-pit slides prepared by Laboratorio Antigeni of the Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, starting from *Leishmania infantum* grown on Tobie's ground. Sera have been tested at 1/40 dilution. Anti Rat- IgG and anti Mouse IgG conjugated with fluorescein isothiocyanate have been used at the dilution indicated for the acquired lot. Serological analyses were performed on a total of 24 specimens of *R. rattus*, and 4 *M. musculus* collected at Fiumefreddo Bruzio, as well as on 9 *R. norvegicus*, 4 *R. rattus* and 13 *Mus musculus* caught at Villa Niscemi. Furthermore we performed a PCR analysis (Osman *et al.*, 1997) on spleen samples from *R. rattus* caught at Fiumefreddo Bruzio, searching for DNA fragments belonging to *L. infantum*.

The applied methodology was subdivided in the following steps:

#### DNA extraction from spleen samples

Spleen samples from each animal were dissected and 25 mg of organ were submitted to the extraction technique according to the procedure described by Kit Quiagen, specific for tissues.

#### PCR

Amplification reaction was performed using a mix of reaction sufficiently clamping in order to carry out conditions of maximum specificity. Primers used correspond to the 2 specific DNA fragments of kinetoplast named 13A and 13B, and described by Sambrook *et al.* (1989), Rodgers *et al.* (1990). Amplification product is formed by a fragment of approximately 120 bp. The extracted DNA has been submitted to 30 amplification cycles and amplification products were analysed by means of electrophoresis on

1% agarose gel for comparison with a molecular weight marker (DNA of phages I digested with Hind III) (Sambrook *et al.*, 1989).

#### Preparation of the probe

Probe used for hybridation tests was obtained by sequence analysis of the amplified fragment and corresponds to an internal of 70 bp which was subsequently marked with Digoxigenina, according to the random primer technique (DIG DNA labelling kit Boheringer).

#### Southern blot

After electrophoretic analysis, gel containing amplified DNA was employed for transfer on nylon filter by means of Southern blot (Sambrook *et al.*, 1989; Gramiccia *et al.*, 1992). Finally, DNA was fixed on the filter for 3 minutes of UV exposure and hybridised with 100 ng of the probe marked with Digoxigenina at 55°C for 12 hours. The hybridation sign was then revealed thanks to DIG Luminescent Detection Kit (Boheringer) on autoradiographic plate.

## 2.1 Field methods

### Fiumefreddo Bruzio (Cosenza)

The Calabrian study area is situated in a typical rural settling in Marina di Fiumefreddo Bruzio (Cosenza), a locality of the mid-Calabrian Tyrrhenian coast, in the province of Cosenza. The area, though placed at an altitude of 5 m.a.s.l., from the bioclimatic point of view, is included in the sannitic vegetation belt on the broad leaved bioma.

The trap grid was placed in October 1997 within a rural settling formed by houses inhabited only during summertime, a small poultry pen, an orange tree grove and a small vine-yard surrounded by an embankment covered by dense scrubs of *Robus* sp., *Robinia pseudoacacia*, *Mirtus communis* and *Ailanthus altissima*. It is the typical rural Mediterranean environment, where a mosaic of vegetation, crops and farming of domestic animals are present, favouring in particular the settling of murid colonies (mainly of *R. rattus* and *M. Musculus* and less commonly the *R. norvegicus*).

We have used *Havahart* traps placed in 5 rows of ten traps each, at a distance of 15 meters from each other, in order to include the different typologies of the environment. Capture area considered had a surface of 1.125 hectares and its value has been calculated adding to each side of the grid a belt whose width is equal to the half of the distance between traps (7.5

meters). As bait in traps we used a mixture of bread, anchovy paste, cereal flakes and apple; we also placed some cotton wool as nesting material. In order to estimate the population density we applied the Chapman Method (Meunier & Solari, 1979) with four days of marking and two days of recapture on individuals of *R. rattus*. Marking was performed by hair clipping, after having immobilised the animal inside a polythene bag.

#### *Villa Niscemi (Palermo)*

Sampling was carried out in a suburban environment of the town of Palermo; the area, from a potential vegetational point of view, can be considered as the climax of *Olea europea* var. *oleaster* and *Ceratonia siliqua* or *O. europea* var. *oleaster* and *Pistacia lentiscus* (Tomaselli, 1973). The trapping grid was placed in a portion of an urban garden, Villa Niscemi, not open to the public, but used as a maintenance site and a deposit of various materials. Villa Niscemi is situated close to "Monte Pellegrino e Parco della Favorita" Natural Reserve and is adjacent to a densely inhabited residential zone, in a working-class neighbourhood. The place is typical of a suburban environment, with populated buildings, natural green areas (though degraded and rearranged) and cultivated areas (citrus groves, orchards, gardens with introduced botanical species). Inside the villa's premises, the remains of the ancient irrigation system dating from the Arab occupation of Sicily can still be seen. It is typical of Sicilian citrus orchards and is represented by the so-called *saje* (small irrigation drains) and small collecting wells, now disused where water is stagnant. Not far away from the trapping grid is present a small man-made pond. The capture grid was obtained placing 49 traps (Havahart model) in 14 rows within a triangular shaped area, with 2 sides delimited by the villa's boundaries, with a distance of 10 meters between traps and a total sampling surface of 0.490 hectares. Within the area, vegetation is mainly herbaceous and characterised by nitrogen-loving plants, such as *Acanthus*, *Oxalis*, *Urtica*, *Malva*, whose presence is due to the accumulation of organic scrap material (sawdust and manure). Among shrubs and trees, *Phyllirea*, *Viburnum*, *Cupressus*, *Eriobothrya*, oaks, evergreen oak and citrus species are prominent.

In order to estimate the population density we have applied the method of total removal (Seber & Le Cren, 1967). Trapping was performed in December 1997, after one day of pre-

baiting, during a total period of 6 days of captures. Removal method was preferred in this study area, as the CMR method, which was employed at Fiumefreddo Bruzio, shows same disadvantages concerning the size estimate of population of *R. norvegicus*. Disadvantages are mainly linked to the difficulty in recapturing the individuals which had been previously exposed to trapping, and to their social structure which does not allow homogeneous redistribution of the already trapped individuals (Turillazzi, 1996). Furthermore, it is well known the particular neophobia which distinguishes commensal populations of *R. norvegicus* (Cagnin, 1987). As we have also recorded the presence of small murines (*A. sylvaticus* and *M. musculus*) in the same area, we placed also some "Longworth" traps.

### 3. Results

Among the examined sera we have altogether found positive cases towards *Leishmania* in the populations of *R. rattus* of Fiumefreddo Bruzio and of *R. norvegicus* and *Mus musculus* of Villa Niscemi. The results of our investigations are shown in table 1.

It is interesting to stress the fact that sera deriving from the population of *R. rattus* of Fiumefreddo Bruzio ( $n = 22$ ) proved positive towards *Leishmania* with a percentage of 57.5%. This value is particularly high when compared to the data available from the literature (Bettini et al., 1980; Pozio et al., 1981). A lower serum prevalence was reported, on the contrary, in *R. norvegicus* at Villa Niscemi (Palermo): 33.3% ( $n = 9$ ). In this last station we have also recorded a case of serological positivity towards *Leishmania* in a single individual of *M. musculus*.

The results of PCR, concerning analyses performed upon spleen samples from specimens of *R. rattus* trapped at Fiumefreddo Bruzio, have allowed to identify *L. infantum* as responsible of the infection, with a calculated prevalence of 45% ( $n = 20$ ). It is important to stress (table 2) how some sera, which resulted positive serologically, proved to be negative to PCR, and viceversa some spleen samples which proved positive to PCR did not come from specimens which resulted serologically positive.

### 4. Discussion

Methods used for the study of the infection from *L. infantum* in murine populations have allowed to obtain prevalence data which represents an important preliminary result for future

**Table 1** - Results of the present investigations

Trapping locality	Fiumefreddo Bruzio (Cosenza) Rural area, 5 m a.s.l. situated on the Calabria coast; Grid n 50 Havahart traps, at a distance of 15 m from each other, 5x10 lines;	Villa Niscemi (Palermo) Town garden 5 m a.s.l. situated in the city of Palermo; Grid: n. 49 Havart traps at a distance of 10 m from each other, 14 lines;
Population density of the species considered	Species: <i>Rattus rattus</i> , valued density = 22.2 rats per ha (CMR method);	Species: <i>Rattus norvegicus</i> , valued density = 12.75 rats per ha (removal method);
Serological results	57.5% positive <i>R. rattus</i> (n=22)	Leishmania: 33.3% positive for <i>R. norvegicus</i> (n=9), 1 positive for <i>Mus musculus</i> (N=13);
Results of PCR	45% positive for <i>R. rattus</i> (n=20);	

**Table 2** - Comparison between results of PCR and serological analyses performed on biological samples of *R. rattus* trapped at Fiumefreddo Bruzio (n.d. = not determined)

	PCR	SEROLOGICAL		PCR	SEROLOGICAL
1	n.d	Positive	13	Negative	Positive
2	n.d	Positive	14	Negative	Positive
3	Positive	Negative	15	Negative	Positive
4	n.d.	Negative	16	Positive	Positive
5	n.d.	Negative	17	Positive	Negative
6	Negative	Positive	18	Positive	Negative
7	Negative	Positive	19	Positive	Negative
8	Negative	Positive	20	Negative	Negative
9	Positive	Positive	21	Negative	Negative
10	Negative	Positive	22	Positive	Positive
11	Negative	Positive	23	Negative	n.d
12	Positive	Negative	24	Positive	n.d.

studies, with a more precise target. Several surveys conducted in Tuscany (Bettini *et al.*, 1980; Pozio *et al.*, 1981) had already highlighted the infection from *L. infantum* in specimens of *R. rattus*, and have given an input to a series of investigations (Gradoni *et al.*, 1983; Pozio *et al.*, 1985) aiming at an in-depth study on the relationships between *R. rattus*, *L. infantum* and the possible vectors involved in the transmission (*Phlebotomus perniciosus* and *P. perfiliewi*). The results of these investigations permitted to consider the Black Rat as a possible reservoir in the epidemic cycle of the protozoan (Gradoni *et al.*, 1983; Ashford & Bettini,

1987). In particular, Ashford & Bettini (1987) wrote: "having satisfied all conditions necessary for the incrimination of species as reservoir of *Leishmania*, according to the suggestions of Killick-Kendrick & Ward (1981), the black rat's role as a natural reservoir host of *L. donovani infantum* in Tuscany deserves serious considerations".

Some recent considerations, however, have scaled down the epidemiological role of *R. rattus*, attributing to this rodent a possible role of epiphenomenon in the epidemiological cycle of *L. infantum* (Lainson, 1982; Gradoni *com. pers.*, in Agrimi & Mantovani, 1995). Data on the prevalence of the infections from

*L. infantum* recorded in *R. rattus* at Fiumefreddo Bruzio, differs considerably from the results reported from the Tuscan populations (3 isolations from a total of 143 specimens trapped between November 1977 - November 1978, at Baccinello (Grosseto) - Bettini et al., 1980; one isolation among 94 individuals trapped in some rural areas of Monte Argentario (Grosseto) - Pozio et al., 1981), stressing the importance held by the Black Rat as a reservoir of the protozoan in the researched Calabrian locality.

As regards the infection from *L. infantum* in *R. norvegicus*, it has been already reported for former Yugoslavia (Petrovic et al., 1975), but this represent the first case of positivity confirmed for Italy. Further in depth studies in order to complement these results with PCR analyses are currently in progress. Studies on the experimental infection of *R. norvegicus* with *L. infantum*, using vectors that could be found in the area of Villa Niscredi, could explain the role played by this rodent in the protozoan's cycle.

The few captures of *M. musculus* at Fiumefreddo Bruzio and of *R. rattus* at Villa Niscredi do not allow us to exclude the presence of the infection in these populations; it is however interesting to remark the serological positivity in a single *M. musculus* trapped at Villa Niscredi.

## References

- AGRIMI U. & MANTOVANI A. (1995) - *Patogeni trasmessi dai roditori infestanti*. In Romi R. (Ed.). *Rapporti ISTISAN 96/11 su Convegno: Aspetti tecnici, organizzativi ed ambientali della lotta antimurina*. Istituto Superiore di sanità - Roma, 17 ottobre 1995, 69-80.
- ASHFROD R. W. & BETTINI S. (1987) - Ecology and epidemiology: Old World. In: *The Biology of Leishmaniasis in Biology and Medicine. Biology and Epidemiology*. W. Peters & R. Killck-Kendrick (Eds.). Vol. I: 365-424.
- ACHA P.N. & SZYFRES B. (1989) - *Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux*. Office International des Epizooties. Paris, 1989.
- BETTINI S., POZIO E. & GRADONI L. (1980) - Leishmaniasis in Tuscany (Italy): (II) *Leishmania* from wild Rodentia and Carnivora in a human and canine leishmaniasis focus. *Transactions of Royal Society of tropical Medicine and Hygiene*, 74: 77-83.
- CAGNIN M. (1987) - Una sintesi di alcuni aspetti della strategia alimentare del ratto *Rattus norvegicus*. *Hystrix*, 2 : 27-44.
- CANNON R.M. & ROW R.T. (1982) - *Livestock disease survey; a field manual for veterinarians*. Bureau of Rural Science, Department of Primary Industry, Australian Government Publishing Service, Canberra.
- COX F.E.G. (1993) - *Modern Parasitology*. Second Edition. Blackwell Scientific Publications
- GRADONI L., POZIO E., GRAMICCIA M., MAROLI M. & BETTINI S. (1983) - Leishmaniasis in Tuscany (Italy): VII. Studies on the role of the black rat (*Rattus rattus*), in the epidemiology of visceral leishmaniasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 77: 427-431.
- GRAMICCIA M., SMITH D. F., ANGELICI M. C., READY P. D. & GRADONI L. (1992) - A kinetoplast DNA probe diagnostic for *Leishmania infantum*. *Parassitologia*, 105: 39-34
- LAINSON R. (1982) - Leishmania Parasites of Mammals in Relation to Human Disease. *Symp. Zool. Soc. Lond.*, 50: 137-179
- MEUNIER M. & SOLARI A. (1979) - Estimation de la densité de population a partir des captures recaptures: application au campagnol des champs. *Mammalia*, 43: 1-24.
- OSMAN O. F., OSKAM L., ZIJLSTRA E. E., KROON N. C., SCHOONE G. J., KHALIL E. T., EL-HASSAN A. M. & KAGER P.A. (1997) - Evaluation of PCR for diagnosis of visceral leishmaniasis. *J. Clin. Microbiol.*, 35: 2454-2457.
- PETROVIC Z., BORJOSKI A. & SAVIN Z. (1975) - Les resultats de recherches sur le réservoir de *Leishmania donovani* dans une région endémique du Kala-azar. *Proc. Europ. Multicoll. Parasit. Trogir.*, 2: 97-98.
- POZIO E., GRADONI L., BETTINI S. & GRAMICCIA M. (1981) - Leishmaniasis in Tuscany (Italy) V. Further isolation of *Leishmania* from *Rattus rattus* in the Province of Grosseto. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 75: 393-395.
- POZIO E., MAROLI M., GRADONI L., BETTINI S. & GRAMICCIA M. (1985) - Laboratory transmission of *Leishmania infantum* to *Rattus rattus* by the bite of experimentally infected *Phlebotomus perniciosus*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 79: 524-526.
- RODGERS M. R., STEPHEN J. & WIRTH D. F. (1990) - Amplification and diagnosis of *Leishmania*. *Exp. Parasitol.*, 71: 267-275.
- ROGERS W. O. & WIRTH D. F. (1987) - Kinetoplast DNA minicircles: regions of extensive sequence divergence. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 84: 565-569.
- SAMBROOK J., FRITSCH E. F. & MANIATIS T. (1989) - *Molecular cloning: a laboratory 2<sup>nd</sup> ed.* Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- SEBER G. A. F. & LE CREN E. D. (1967) - Estimating population parameters from catches relative to the population. *J. Anim. Ecol.*, 36: 631-643.
- TOMASELLI R. (1973) - *La vegetazione forestale d'Italia*. Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste. Collana verde 33. 65 pp.
- TURILLAZZI P. G. (1996) - Ecologia ed etologia di ratti e topi. In: Romi R. (Ed.). *Rapporti ISTISAN 96/11 su Convegno. Aspetti tecnici, organizzativi ed ambientali della lotta antimurina*. Istituto Superiore di sanità - Roma, 17 ottobre 1995; pp. 3-24.



# INDAGINI SUL RUOLO DEI RODITORI SELVATICI E DEL CAPRIOLO COME OSPITI PER *IXODES RICINUS* (IXODIDAE) IN UN'AREA DELL'APPENNINO LIGURE-PIEMONTESE.

Peyrot R., Mannelli A., De Meneghi D., Meneguz P. G.

Dipartimento di Produzioni Animali, Epidemiologia ed Ecologia, Via L. da Vinci 44, 10095 Grugliasco, Torino, Italy

**Riassunto** - Per studiare il ruolo del Capriolo e dei roditori selvatici come ospiti per *Ixodes ricinus* (il vettore di *Borrelia burgdorferi* sensu lato—agente della borreliosi di Lyme) le rispettive popolazioni sono state censite, ed i livelli d'infestazione da parte delle zecche sono stati valutati in un'area appenninica in provincia di Alessandria. E' stata stimata una densità primaverile di 40 caprioli per 100 ha, mentre la densità dei micromammiferi (*Apodemus* spp. e *Clethrionomys glareolus*) variava da 4 a 30 individui, in quattro griglie di cattura di 0,36 ha. *Ixodes ricinus* è stata l'unica specie di zecca raccolta dagli animali e dall'ambiente. La prevalenza delle zecche immature sulla parte distale degli arti anteriori (metacarpo e falangi) di otto caprioli esaminati in agosto 1998 è stata del 100%. Dagli arti dei caprioli sono state raccolte, in media ( $\pm$  DS), 1016,6 ( $\pm$  742,6) larve, e 25,6 ( $\pm$  13,9) ninfe, mentre non sono stati raccolti adulti. In base al sito di cattura, la prevalenza delle larve sui roditori in luglio-agosto 1998 variava dal 65,0 al 93,0% ( $\chi^2 = 10,6$ , g.l.= 3,  $P < 0,05$ ), mentre la prevalenza delle ninfe variava dallo 0,0 al 30,0% (Test esatto di Fisher:  $P = 0,005$ ). Anche la mediana ( $Q_1$ - $Q_3$ ) del numero di larve per topo differiva significativamente fra i quattro siti, da 1,0 (0-2) a 4,0 (1-9) (Kruskal Wallis  $H = 26,2$ , g.l.= 3,  $P < 0,001$ ). Il numero di ninfe in cerca di ospite, raccolte con la tecnica del "dragging", ha raggiunto il massimo in giugno (6,1 / 100 m), mentre il picco di attività delle larve è stato osservato in agosto (23,1 / 100 m di dragging).

**Abstract** - Investigating the role of Roe Deer and wild rodents as hosts for *Ixodes ricinus* (Ixodidae) on the Ligure-Piemontese Apennines. Roe deer *Capreolus capreolus* and small rodents (*Apodemus* spp. e *Clethrionomys glareolus*) population densities, and infestation levels by *Ixodes ricinus* (the tick vector of *Ixodes ricinus* sensu lato—the causative agent of Lyme borreliosis) were studied in an Apennine area, in the province of Alessandria. In spring 1998, Roe deer density was 40 heads / 100 ha, whereas the numbers of rodents in four trapping grids (0,36 ha) ranged 4 – 30. *Ixodes ricinus* was the only tick species that was collected from animal hosts and from the environment. Immature ticks were collected from Roe deer metacarpi which were examined during summer 1998 hunting season (mean ticks  $\pm$  SD per deer = 1016.6  $\pm$  742.6 larvae and 25.6  $\pm$  13.9 nymphs). Depending on trapping site, in July-August 1998, prevalence of larvae on small rodents varied from 65.0 to 93.0% ( $\chi^2 = 10.6$ , d.f.= 3,  $P < 0.05$ ), whereas prevalence of nymphs ranged 0.0 – 30.0% (Fisher's exact  $P = 0.001$ ). Median ( $Q_1$ - $Q_3$ ) number of larvae per mouse was also significantly different among sites, and it varied from 1.0 (0-2) to 4.0 (1-9) (Kruskal Wallis  $H = 26.2$ , , d.f.= 3,  $P < 0.001$ ). Host seeking nymphs peaked in June (6,1 / 100 m dragging) and larvae peaked in August (23.1 / 100 m).

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 131 - 135

## 1. Introduzione

Lo studio dei fattori abiotici e biotici che influiscono sulla dinamica di popolazione delle zecche è di fondamentale importanza per valutare il rischio di trasmissione all'uomo della borreliosi di Lyme, malattia sostenuta da *Borrelia burgdorferi* e veicolata, in Europa occidentale, da *Ixodes ricinus* (Burgdorfer *et al.*, 1982; Jaenson, 1991).

Obiettivo di questo studio preliminare, inserito in un programma di indagini sulla malattia di Lyme, è valutare il ruolo dei roditori selvatici e del Capriolo (*Capreolus capreolus*) come ospiti di *I. ricinus* in un area appenninica in provincia di Alessandria, che confina con un'area della Liguria dove la borreliosi di Lyme è stata segnalata (Genchi *et al.*, 1997). E' dimostrato, infatti, che l'infezione da *B. burgdorferi* in *I. ricinus* è più

frequente quando una percentuale maggiore di zecche immature si nutre su serbatoi competenti per questo agente, come i roditori selvatici, piuttosto che su ospiti non competenti, quali sono gli ungulati (Jaenson & Talleklint, 1992; Gray *et al.*, 1992; Talleklint & Jaenson, 1996).

## 2. Descrizione dell'area

La ricerca è stata effettuata nel comune di Squaneto (AL), sul territorio di un'Azienda Faunistico Venatoria A.F.N. che si estende su 560 ettari, ad un'altezza media di 430 m s.l.m. La tipologia ambientale predominante (408 ha) è il bosco di latifoglie misto costituito in prevalenza da Cerro (*Quercus cerris*), Roverella (*Q. pubescens*), Castagno (*Castanea sativa*), Carpino (*Carpinus betulus*), Pino silvestre (*Pinus sylvestris*), con ambienti ecotonali caratterizzati da

Ginestra (*Spartium junceum*), Ginepro (*Juniperus communis*) e Rovo (*Robus* sp.).

La mammalofauna stabilmente presente nell'area è rappresentata da 17 specie appartenenti agli ordini *Insectivora*, *Lagomorpha*, *Rodentia*, *Carnivora* e *Artiodactyla*. Esse sono: Crocidura ventrebianco (*Crocidura leucodon*), Toporagno comune *Sorex araneus*, Talpa *Talpa* sp., Riccio *Erinaceus europaeus*, Lepre comune *Lepus europaeus*, Scoiattolo *Sciurus vulgaris*, Campagnolo rossastro (*Clethrionomys glareolus*), Topo selvatico (*Apodemus sylvaticus*), Topo selvatico collo giallo (*Apodemus flavicollis*), Ghiro (*Glis glis*), Moscardino (*Muscardinus avellanarius*), Volpe (*Vulpes vulpes*), Donnola (*Mustela nivalis*), Faina (*Martes foina*), Tasso (*Meles meles*), Cinghiale (*Sus scrofa*), Capriolo (*Capreolus capreolus*).

### 3. Materiali e metodi

La densità del Capriolo, espressa come capi/100 ettari, è stata valutata nel mese di aprile del 1998 mediante censimenti in battuta e per osservazione diretta, così come descritto in Meneguz & Rossi (1991).

La stima della densità dei roditori selvatici è stata ottenuta mediante la cattura con trappole meccaniche (mod. Sherman Live Traps Co., 7,5x7,5x25 cm) che sono state disposte a 15 m di distanza l'una dall'altra, in 4 griglie di 0.36 ettari (5 trappole per lato).

Le griglie di cattura sono state tracciate in boschi di latifoglie complessivamente omogenei, ma con composizione lievemente diversa in parte di esse: in 2 siti (X e Z) dominavano Cerro e Roverella; nel sito W si aveva predominanza di Castagno rispetto al Cerro, mentre nel sito Y il bosco era misto e più giovane.

Nell'estate 1998 sono state effettuate cinque notti di catture: una in giugno, due a luglio e due ad agosto. Nelle sessioni di luglio ed agosto le trappole sono state lasciate aperte, munite di esca, ma con sistema di scatto disattivato nelle due notti precedenti le catture.

Di ogni micromammifero catturato è stata determinata la specie di appartenenza, ma a causa della difficoltà di differenziare in vita *A. sylvaticus* da *A. flavicollis*, si è preferito classificare tali soggetti come *Apodemus* sp. La densità dei roditori è stata espressa come numero di soggetti catturati per sessione e per griglia. Le zecche sono state raccolte nell'ambiente, dai micromammiferi catturati e dagli arti anteriori (porzione distale dell'arto comprendente metacarpo e falangi) dei caprioli provenienti dall'abbattimento selettivo dell'agosto 1998.

Per la raccolta di zecche dai caprioli è stata utilizzata la metodica messa a punto da Gilot et al. (1989) parzialmente modificata. Ogni coppia di arti è stata prelevata dall'animale appena abbattuto ed immediatamente chiusa in busta di plastica ermetica per essere congelata fino al momento dell'analisi, quando ogni arto è stato spazzolato su carta bianca. Le zecche raccolte sono state poste in alcool etilico al 70%.

La ricerca delle zecche sui micromammiferi è stata facilitata sedando ogni soggetto catturato con una miscela di anestetico (3 parti di ketamina, Inoketam 1000, Virbac e una di propionilpromazina Combelen, Bayer) somministrata i. m. alla dose di 0,03 ml/soggetto (pari a 2,25 mg di ketamina e 0,075 mg di propionilpromazina); le zecche raccolte sono state conservate in alcool etilico al 70%. Inoltre durante la narcosi ogni soggetto è stato sottoposto a biopsia auricolare (Biopsy Punch® Ø 2 mm, Stiefel) ed il materiale raccolto è stato posto in alcool etilico al 70% per successivo esame. Se si trattava di una prima cattura, si è anche proceduto alla marcatura individuale utilizzando la metodica descritta da Gurnell & Flowerdew (1982), parzialmente modificata (rasatura del pelo in aree predefinite secondo un codice).

Le zecche in cerca di ospite sono state raccolte presso i siti di cattura dei micromammiferi mediante la tecnica del *dragging* (Ginsberg & Ewing, 1989) su transetti di 50 metri. In giugno, il *dragging* è stato eseguito lungo due transetti per sito di cattura: un transetto all'interno della griglia dove si disponevano le trappole, ed uno in ambiente ecotonale, fra bosco e prato, nelle vicinanze della stessa griglia. In luglio ed agosto, il *dragging* è stato eseguito, rispettivamente, in quattro e sei transetti per sito di cattura, equamente divisi fra bosco ed ecotono.

Tutte le zecche raccolte sono state identificate per specie e stadio di sviluppo, utilizzando le chiavi illustrate di Manilla & Iori (1992; 1993). Dell'infestazione da zecche raccolte sugli arti dei caprioli sono state calcolate la prevalenza ( $n^\circ$  di soggetti infestati /  $n^\circ$  di soggetti esaminati) e la densità relativa ( $\pm$  DS) (numero medio di zecche per capriolo esaminato, (Margolis et al., 1982).

Dell'infestazione da zecche nei roditori sono state calcolate la prevalenza, la mediana e primo-terzo quartile ( $Q_1$ - $Q_3$ ) del numero di zecche per soggetto, utilizzando i dati raggruppati delle sessioni di cattura di luglio e di agosto. Dalle analisi statistiche sono stati esclusi i dati relativi a soggetti ricatturati nella stessa

sessione, mentre sono stati utilizzati i dati di soggetti ricatturati in sessioni diverse. Le prevalenze d'infestazione nei quattro siti di cattura sono state confrontate con test del  $\chi^2$  (larve) e con Test esatto di Fisher (ninfe). Le mediane del numero di larve per roditore sono state confrontate con analisi della varianza non parametrica di Kruskal Wallis (SAS, 1989). Nelle analisi statistiche è stato utilizzato un livello di significatività  $\alpha = 0.05$ .

#### 4. Risultati

La densità massima di caprioli é stata stimata con la tecnica del censimento in battuta che ha permesso di valutare in 40 capi/100 ettari il numero di animali presenti in primavera. Nelle tre sessioni, sono stati catturati 112 micromammiferi (106 *Apodemus* sp e sei *Clethrionomys glareolus*), per un totale di 138 catture (incluse le ricatture in sessioni diverse). I dati di infestazione relativi all'unico soggetto (*Apodemus* sp.) catturato in giugno non sono stati utilizzati per le analisi statistiche. L'unica specie di zecca raccolta è stata *I. ricinus*. La prevalenza di infestazione da zecche immature su 8 caprioli abbattuti ad agosto '98, è stata del 100%. La densità relativa di larve ( $\pm$  DS) e di ninfe ( $\pm$  DS) per coppia di arti è stata, rispettivamente, 1016,6 ( $\pm$  742,6) e 25,6 ( $\pm$  13,9). Per contro esemplari adulti di *I. ricinus* non sono stati reperiti sui campioni esaminati.

Dai roditori sono state raccolte 394 larve, 13 ninfe ed un adulto; la prevalenza e la mediana ( $Q_1$ - $Q_3$ ) delle larve, riportate in Tab. 1 e Fig. 1, sono risultate significativamente diverse fra i quattro siti (prevalenza:  $\chi^2 = 10,6$ , g.l.= 3,  $P < 0,05$ ; mediana: Kruskal Wallis  $H = 26,2$ , g.l.=3,  $P < 0,001$ ). La prevalenza delle ninfe è stata del 30,0% nel sito Y, 13,8% in Z, 5,1% in W e 0,0% in X, e le differenze erano statisticamente significative (Test esatto di Fisher:  $P = 0,005$ ).

Con il *dragging*, sono state raccolte, in media (DS) 3,9 (6,8) larve e 6,1 (11,3) ninfe per transetto in giugno, 5,6 (10,2) larve e 0,8 (2,0) ninfe in luglio, e 23,1 (32,1) larve e 0,25 (0,53) ninfe in agosto.

#### 5. Discussione

Nella nostra area di studio abbiamo rilevato la presenza esclusiva di *I. ricinus*, sia nell'ambiente sia sulla fauna selvatica. Tale dominanza è un fenomeno già evidenziato anche in altre aree boscoso europee (Kurtenbach et al., 1995).

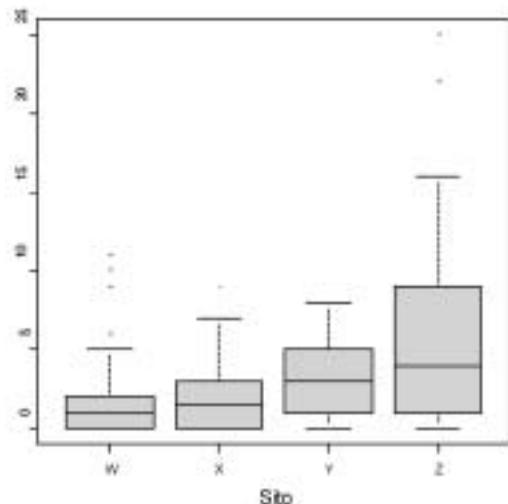
La densità primaverile dei caprioli è risultata essere fra le più elevate in Piemonte, così come

elevati sono stati i livelli d'infestazione da immaturi di *I. ricinus*, se confrontati con dati emersi da lavori analoghi. In Svezia meridionale, Jaenson & Talleklint (1992) pur avendo raccolto le zecche su tutto il corpo dei caprioli abbattuti nello stesso periodo (agosto), hanno riscontrato livelli di infestazione da larve decisamente inferiori (276 esemplari  $\pm$  182). Il numero medio ( $\pm$  DS) di ninfe era invece superiore (57  $\pm$  39). Gilot et al. (1989) hanno raccolto le zecche dagli arti posteriori di caprioli, prelevati nei mesi di settembre-ottobre, ottenendo in media 3 larve e 1,8 ninfe di *I. ricinus* per soggetto. In questo caso, i livelli inferiori di infestazione riscontrati potrebbero essere attribuiti alla periodo di raccolta successivo al picco di attività delle larve, che in Europa settentrionale ed in Italia centro-settentrionale si verifica in agosto (Gray, 1991; Genchi et al., 1994; Mannelli et al., 1999). La metodica di raccolta delle zecche dai caprioli, da noi utilizzata, non consente di determinare la carica infestante totale. Tale informazione, difficile da ottenere in condizioni di campo, è necessaria al fine di valutare l'importanza di questo ungulato come ospite per gli stadi immaturi di *I. ricinus*. Nel seguito del nostro lavoro ci riproponiamo di contare il numero di zecche presente sul corpo di alcuni caprioli, secondo la metodica descritta da Jaenson & Talleklint (1992). Sarà così possibile valutare la correlazione fra la carica infestante totale e la carica determinabile, in modo assai più agevole, sull'estremità distale degli arti anteriori.

La prima sessione di cattura di roditori, condotta nel mese di giugno, ha avuto scarso successo, essendo stato catturato un solo soggetto. Tale risultato potrebbe essere imputabile al fatto che le trappole erano state da poco lavate e disinfettate. Inoltre, a differenza di quanto fatto a luglio ed agosto, l'unica notte di cattura di giugno non è stata preceduta da notti in cui le

**Tab. 1** - Infestazione da larve *Ixodes ricinus* in roditori catturati in quattro siti, nel periodo luglio-agosto 1998, nell'A.F.V. Squaneto (AL).

Sito	Larve <i>I. ricinus</i>			
	Prevalenza		Mediana	(Q1-Q3)
%	(n)			
X	65,0	(40)	1,5	(0-3)
Y	80,0	(10)	3,0	(1-5)
W	61,0	(59)	1,0	(0-2)
Z	93,0	(28)	4,0	(1-9)



**Fig. 1** – Box plot del numero di larve per roditore, in quattro siti di cattura, nell'A.F.V. Squaneto, nel periodo luglio-agosto 1998. Il fondo e la parte alta di ogni box rappresentano rispettivamente il primo ed il terzo quartile delle distribuzioni. La mediana è rappresentata dalla linea orizzontale all'interno dei box (Cody e Smith, 1991).

trappole, disattivate, venivano lasciate aperte con esca.

Le densità delle popolazioni dei piccoli roditori (*Apodemus* spp. e *C. glareolus*) da noi determinate sono superiori a quelle riportate in Svezia, dove i micromammiferi più abbondanti erano *Sorex minutus* e *S. araneus* (Talleklint & Jaenson, 1994). D'altra parte, in altri studi eseguiti in Italia, *Apodemus* spp costituivano la parte più rilevante dei micromammiferi catturati (Capizzi & Luiselli, 1996; Capizzi et al., 1998). Sotto il profilo metodologico, va precisato che la stima della densità dei roditori ottenuta su griglie di ridotte dimensioni, come nel nostro studio pilota, potrebbe essere relativamente poco precisa. E' comunque emersa eterogeneità della densità di popolazione dei roditori e dei livelli d'infestazione di *I. ricinus* sui topi (significativamente diversi fra le griglie). Tali osservazioni fanno ipotizzare l'effetto di fattori microambientali (Daniel & Dusbabek, 1994) che saranno studiati in futuro con l'utilizzo griglie di maggiori dimensioni.

Per quanto riguarda le zecche in cerca di ospite, è stata rilevata una maggiore attività delle ninfe nel mese di giugno, mentre nel mese di agosto si è avuto un picco delle larve. In Italia, questo andamento temporale è stato preceden-

temente osservato (Genchi et al., 1994; Mannelli et al., 1999).

La presenza di *B. burgdorferi*, sia nelle zecche sia nei micromammiferi, verrà valutata con una tecnica di PCR che è in fase di messa a punto nei nostri laboratori. La frequenza di *B. burgdorferi* sl, ed il rischio d'infezione per l'uomo e gli altri animali suscettibili saranno studiati in relazione al ruolo del Capriolo (non competente per le spirochete, Jaenson e Talleklint, 1992) e dei micromammiferi (serbatoi competenti, Gern et al., 1998) come ospiti per gli stadi immaturi di *I. ricinus*.

## 6. Ringraziamenti

Questo studio non sarebbe stato possibile senza la disponibilità ed il significativo contributo durante le ricerche su campo del Dott. Fabio Ogliastro, al quale vanno i nostri ringraziamenti. Si ringraziano inoltre gli Accompagnatori ed i Cacciatori dell'Azienda Faunistica Venatoria Squaneto, che hanno reso possibile la raccolta di parte del materiale.

## Bibliografia

- BURGDORFER W., BARBOUR A.G., HAYES S.F., BENACH J.L., GRUNWALDT E. & DAVIS J.P. (1982) - Lyme disease a tick-borne spirochetosis? *Science*, 216: 1317-1319.
- CAPIZZI D., CAROLI L. & VARUZZA P. (1998) - Feedings habits of sympatric long eared Owl *Asio otus*, Tawny Owl *Strix aluco* and Barn Owl *Tito alba* in a mediterranean coastal woodland. *Acta Ornithologica*. 33(3-4):85-92.
- CAPIZZI D. & LUISELLI L. (1996) - Ecological relationships between small mammals and age of coppice in an oak-mixed forest in central Italy. *Rev. Ecol. (Terre et Vie)*, 51: 277-291.
- CODY R.P. & SMITH J.K. (1991) - *Applied statistics and the SAS® programming language*, third edition, Prentice Hall, Englewood Cliff, New Jersey, pp 37-41.
- DANIEL M. & DUSBABEK F. (1994) - Micro-meteorological and microhabitat factors affecting maintenance and dissemination of tick-borne diseases in the environment. In: *Ecological Dynamics of Tick-Borne Zoonoses* (D E Sonenshine, T N Mather, Eds), Oxford University Press, V: 91-138.
- GENCHI C., RIZZOLI A. P., FABBÌ M., SAMBRI V., MANFREDI M. T., MAGNINO S., MORONI A., MASSARIA F. & CEVENINI R. (1994) - Ecology of *Borrelia burgdorferi* in some areas of northern Italy. In: Cevenini R, Sambri V, La Placa M (eds), *Advances in Lyme borreliosis research. Proceedings of the VI International Conference on Lyme Borreliosis*. Bologna: Società Editrice Esculapio, pp. 232-234.
- GENCHI C., MANFREDI M. T., BASANO SOLARI F., RIZZOLI A. P., CHEMINI C., FABBÌ M., MAGNINO S. & GARBARINO C. (1997) - Ecologia di *Ixodes ricinus* e *Borrelia burgdorferi* in nord Italia. *Atti del IV Convegno Internazionale "Malattie infettive nell'arco*

- Alpino", Provincia Autonoma di Bolzano, pp. 28-30
- GERN L., ESTRADA-PENA A., FRANDSEN F., GRAY J. S., JAENSON T. G. T., JONJEAN F., KAHL O., KORENBERG E., MEHL R. & NUTTALL P. A. (1998) - European reservoir hosts of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *Zent.bl. Bakteriol.* 287: 196-204.
- GILOT B., BONNEFILLE M., DEGEILH B., BEAUCOURNU J.C. & GUIGUEN C. (1989) - La colonisation des massifs forestiers par *Ixodes ricinus* (Linné, 1758) en France: utilisation du chevreuil, *Capreolus capreolus* (L. 1758) comme marqueur biologique. *Parasite*, 1: 81-86.
- GINSBERG H.S. & EWING C.P. (1989) - Comparison of flagging, walking, trapping, and collecting from hosts as sampling methods for northern deer ticks, *Ixodes dammini*, and lonestar ticks, *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae). *Exp. App. Acarol.*, 7: 313-322.
- GRAY J. S. (1991) - The development and seasonal activity of the tick *Ixodes ricinus*, a vector of Lyme borreliosis. *Rev. Med. Vet. Entomol.*, 79: 323-329.
- GRAY J. S., KAHL O., JANETZKI C. & STEIN J. (1992) - Studies on the ecology of Lyme disease in a Deer forest in County Galway, Ireland. *J. Med. Entomol.*, 1992; 29: 915-920.
- GURNELL J. & FLOWERDEW (1982) - *Live trapping small mammals - a practical guide*. Occasional publication of the Mammal Society, Reading Berkshire (UK) pp 24.
- JAENSON T.G.T. (1991) - The epidemiology of Lyme borreliosis. *Parasitology Today*, 2: 39-45.
- JAENSON T.G.T. & TALLEKLINT L. (1992) - Incompetence of roe deer as reservoir of the Lyme borreliosis spirochete. *J. Med. Entomol.*, 29: 813-817.
- KURTENBACH K., KAMPEN H., DIZIJ A., ARNDT S., SEITZ H., M., SCHAIBLE U., E. & SIMON M. (1995) - Infestation of rodents with larval *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) is an important factor in the transmission cycle of *Borrelia burgdorferi* s.l. in German woodlands. *J. Med. Entomol.*, 32: 807-817.
- MANILLA G. & IORI A. (1992) - Chiave illustrata delle zecche d'Italia. I: stadi larvali delle specie della sottofamiglia Ixodinae (Acari, Ixodoidea, Ixodidae). *Parassitologia*, 34: 83-95.
- MANILLA G. & IORI A. (1993) - Chiave illustrata delle zecche d'Italia. II: stadi ninfali delle specie della sottofamiglia Ixodinae (Acari, Ixodoidea, Ixodidae). *Parassitologia*, 34: 37-45.
- MANNELLI A., TOLARI F., PEDRI P. & STEFANELLI S. (1996) - Fattori che influenzano la distribuzione di zecche Ixodidae nel parco dell'Orecchiella. *Suppl. alle Ricerche di Biologia della selvaggina*, XXIV: 321-333.
- MANNELLI A., CERRI D., BUFFRINI L., ROSSI S., ROSATI S., ARATA T., INNOCENTI M., GRIGNOLO M. C., BIANCHI G., IORI A. & TOLARI F. (1999) - Low risk of Lyme borreliosis in a protected area on the Tyrrhenian coast, in central Italy. *Eur. J. Epidemiol.*, 15 :371-377.
- MARGOLIS L., ESCH G. W., HOLMES J. C., KURTIS A. M. & SCHAD G.A. (1982) - The use of ecological terms in parasitology (report on an *ad hoc* committee of The American Society of Parasitologists). *J. Parasitol.*, 68: 131-133.
- MENEGUZZ P.G. & ROSSI L. (1991) - Metodi di censimento dei cervidi autoctoni. In: *Gestione e Protezione del patrimonio faunistico*. Collana scientifica della Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche n° 32, Fond. Iniz. Zooprof. e Zoot. ed.,: 93-101.
- MOORING M.S. & MCKENZIE A.A. (1995) - The efficiency of relative tick burdens in comparison with total tick counts. *Experimental & Applied Acarology*, 19: 533-547.
- SAS INSTITUTE INC., 1989 - *SAS/STAT User's Guide*, Version 6, Fourth Edition, Volume 2. Cary, USA, pp. 1071-1126.
- TALLEKLINT L. & JAENSON T.G.T. (1994) - Trasmissione di *Borrelia burgdorferi* s.l. from mammal reservoirs to the primary vector of Lyme borreliosis, *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae), in Sweden. *J. Med. Entomol.*, 31: 880-886.
- TALLEKLINT L. & JAENSON T.G.T. (1996) - Relationship between *Ixodes ricinus* density and prevalence of infection with *Borrelia*-like spirochetes and density of infected ticks. *J. Med. Entomol.*, 33: 805-811.



# EFFETTO DELLA COMPOSIZIONE DELLE POPOLAZIONI FAUNISTICHE SULLA TRASMISSIONE DI *BORRELIA BURGDORFERI* SENSU LATO DA PARTE DI *IXODES RICINUS* (IXODIDAE): STUDIO CON UN MODELLO DI SIMULAZIONE.

Mannelli A.

Dipartimento di Produzioni Animali, Epidemiologia ed Ecologia, Università di Torino,  
Via L. da Vinci 44, 10095 Grugliasco, Torino; e-mail: mannelli@unito.it

**Riassunto** - Un modello di simulazione della popolazione di *Ixodes ricinus*, la zecca che trasmette l'agente della borreliosi di Lyme (*Borrelia burgdorferi* sensu lato) in Europa occidentale, è stato costruito con un software ad interfaccia grafica. Le simulazioni sono state eseguite variando la composizione delle popolazioni di animali selvatici ospiti per le zecche. In condizioni di bassa densità di Capriolo (*Capreolus capreolus*) (5 capi / 100 ha), la popolazione di *I. ricinus* va incontro ad una crescita lenta (tasso riproduttivo annuo,  $R=1,1$ ), mentre un'elevata proporzione di vettori è infetta con *B. burgdorferi* sl (52%). Un aumento della densità del Capriolo (30 / 100 ha) è associato ad un notevole aumento dell'abbondanza di zecche ( $R=2,9$ ). Si osserva però una contemporanea riduzione della prevalenza di *B. burgdorferi* sl (32%), a causa dell'elevato numero di zecche che si nutrono sugli ungulati, che sono considerati incompetenti come serbatoi per l'agente patogeno. In un terzo scenario, la densità del Capriolo è mantenuta elevata, mentre quella dei piccoli roditori (*Apodemus* spp. e *Clethrionomys glareolus*, i principali serbatoi per *B. burgdorferi* sl) è ridotta da 50 a 12,5 / ha. In tali condizioni, la popolazione di *I. ricinus* va ugualmente incontro ad una rapida crescita ( $R=2,1$ ), ma la prevalenza degli agenti patogeni è ridotta al 20%. I risultati ottenuti sono in accordo con osservazioni di campo, che attribuiscono agli ungulati il ruolo principale nel determinare l'abbondanza delle zecche, mentre i roditori determinano la frequenza degli agenti patogeni. Come osservato in Europa settentrionale, elevate densità di ungulati, sebbene causino una riduzione della prevalenza di *B. burgdorferi* sl nelle zecche, sono comunque associate con un alto rischio di borreliosi di Lyme per l'uomo e gli animali suscettibili, a causa dell'amplificazione della popolazione di *I. ricinus*. Questo modello potrà essere utilizzato per studiare i meccanismi alla base della bassa frequenza di *B. burgdorferi* sl in aree dell'Italia centrale.

**Abstract** - Use of a simulation model to study the effects of the composition of wildlife populations on the transmission of *Borrelia burgdorferi* sensu lato by *Ixodes ricinus* (Ixodidae). Using a graphical modelling environment, a simulation model was built for the population of *Ixodes ricinus*, the tick that transmits the causative agent of Lyme borreliosis (*Borrelia burgdorferi* sensu lato) in western Europe. Simulations were carried out with different scenarios regarding the composition of wildlife hosts populations. At low density of Roe deer *Capreolus capreolus*, 5 heads/100 ha, tick population growth was slow (annual reproductive rate  $R=1.1$ ), and a high proportion (52%) of host-seeking ticks was infected with *B. burgdorferi* sl. At increased density of Roe deer (30 / 100 ha) tick population growth was fast ( $R=2.9$ ). Prevalence of *B. burgdorferi* sl was however reduced due to the high proportion of ticks feeding on Roe deer, which are considered incompetent as reservoirs for the disease agent. In a third scenario, deer density was kept high, but small rodents (*Apodemus* spp and *Clethrionomys glareolus*, the major reservoirs for *B. burgdorferi* sl) are reduced from 50 / ha to 12.5 / ha. Tick population still grows fast ( $R=2.1$ ), but infection prevalence drops to 20%. The results of the model correspond to previous field observations demonstrating the major role of wild ungulates in determining tick abundance, whereas small rodents determine the frequency of *B. burgdorferi* sl in ticks. As observed in northern Europe, high deer densities are associated with high risk of Lyme borreliosis in humans and other susceptible animals, due to amplified tick populations, although they reduce tick infection prevalence. After appropriate changes, this model will be suitable to gain theoretical insight in potential mechanisms underlying the low frequency of *B. burgdorferi* sl that is reported for certain areas of central Italy.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 137 - 144

## 1. Introduzione

La borreliosi di Lyme è la più frequente zoonosi trasmessa da vettori in Europa ed America settentrionale (Jaenson, 1991; Piesman & Gray, 1994). L'agente causale (*Borrelia burgdorferi* sensu lato) è una spirocheta trasmessa da zecche appartenenti all'*Ixodes persulcatus complex*, Acari: Ixodidae (Filippova, 1990). Questi vettori sono

diffusi in aree boschive, ed utilizzano come ospiti numerose specie di animali selvatici.

Nell'ambito dell'area di diffusione delle zecche, l'intensità della trasmissione della borreliosi di Lyme varia notevolmente. In 101 località, esaminate in 14 paesi europei in un progetto di ricerca patrocinato dalla Comunità Europea (EUCALB), la prevalenza di *B. burgdorferi* sl in

zecche in cerca di ospite (*I. ricinus* ed *I. persulcatus*) variava dallo zero al 50% (Gray *et al.*, 1998). In Italia, la prevalenza d'infezione in *I. ricinus* più elevata (70%) è stata rilevata in provincia di Trieste (Cinco *et al.*, 1998a); mentre nelle regioni centrali sono stati riscontrati livelli d'infezione assai più bassi (Genchi *et al.*, 1994; Cinco *et al.*, 1998b; Mannelli *et al.*, 1999).

La composizione delle popolazioni faunistiche è in grado d'influenzare la prevalenza di *B. burgdorferi* sl nelle zecche, in quanto questa dipende dalla proporzione dei vettori che si nutre sulle diverse specie di vertebrati e dalla capacità di ciascuna specie ospite di trasmettere le spirochete ("reservoir competence"). Solo una piccola percentuale (intorno all'1%) delle larve di *I. ricinus* è infetta alla schiusa, e le zecche assumono normalmente le spirochete nutrendosi su serbatoi competenti. I piccoli roditori (fra questi *Apodemus* spp, e *Clethrionomys glareolus*) sono considerati i serbatoi più importanti, ma anche altri animali selvatici europei, come insettivori, lagomorfi, ed uccelli, possono giocare un ruolo primario nella trasmissione di *B. burgdorferi* sl. (Talleklint & Jaenson, 1994; Gern *et al.*, 1998).

Gli ungulati selvatici (cervidi e bovidi) sono gli ospiti primari per le zecche adulte, e sono perciò i principali responsabili dell'abbondanza dei vettori (Wilson *et al.*, 1990). In un primo tempo, gli ungulati erano anche considerati serbatoi per le spirochete (Lane & Burgdorfer, 1986). Successive ricerche hanno però dimostrato che queste specie non sono in grado di trasmettere *B. burgdorferi* sl alle zecche (Telford *et al.*, 1988; Jaenson & Talleklint, 1992). Matuschka *et al.*, (1993) hanno suggerito che il Daino (*Dama dama*), oltre a competere, come ospite per *I. ricinus*, con i serbatoi di *B. burgdorferi* sl., possa addirittura eliminare l'infezione eventualmente preesistente nelle zecche.

Queste conclusioni sono state parzialmente contraddette da altri studi, che hanno dimostrato che *B. burgdorferi* sl può diffondere a livello cutaneo fra zecche che si nutrono vicine sul corpo del Cervo Sika (*Cervus nippon yesoensis*). Quindi, sebbene questo ungulato non vada incontro ad infezione sistemica, potrebbe favorire la diffusione delle spirochete nelle zecche (Kimura *et al.*, 1995). Il ruolo ecologico di questo fenomeno (detto "cofeeding"), nel mantenimento e nell'eventuale amplificazione in natura di *B. burgdorferi* sl deve però essere ancora verificato (Randolph & Craine, 1995). Studi di campo in Europa settentrionale hanno infatti messo in evidenza un'associazione nega-

tiva fra l'abbondanza di daini e caprioli e la prevalenza di spirochete in *I. ricinus* (Gray *et al.*, 1992; Talleklint & Jaenson, 1996). Nelle stesse indagini, il numero assoluto delle zecche infette risultava però notevolmente aumentato in condizioni di alta densità di ungulati, con il risultato di un alto rischio d'infezione per l'uomo e gli altri animali suscettibili ("entomological risk index", Mather & Ginsberg, 1994).

Oltre alla composizione delle popolazioni faunistiche, l'andamento temporale dell'attività degli stadi immaturi delle zecche e la dinamica di popolazione dei serbatoi possono influenzare l'intensità della trasmissione di *B. burgdorferi* sl (Ginsberg 1988, Yuval & Spielman, 1990, Talleklint *et al.*, 1993). Inoltre, è stato recentemente osservato che la suscettibilità di diversi ceppi di *I. ricinus* all'infezione (e quindi la loro competenza come vettori) è soggetta a variazioni geografiche (Estrada Pena *et al.*, 1998).

I modelli di simulazione sono utili per la comprensione dei rapporti fra le popolazioni di vettori, agenti patogeni, vertebrati ospiti e/o serbatoi nella dinamica delle zoonosi trasmesse da zecche (Kitron & Mannelli, 1994). La simulazione di un sistema ecologico con un modello permette di esplorare, seppure in via teorica, i meccanismi che sono alla base di variabili di interesse epidemiologico, come la frequenza degli agenti patogeni nei vettori. In questo studio, è stato costruito un modello di simulazione della popolazione di *I. ricinus* utilizzando un software ad ambiente grafico. In questa prima fase, il modello è stato impiegato per studiare l'effetto di variazioni delle popolazioni di animali selvatici sulla dinamica di popolazione delle zecche e sull'intensità della trasmissione di *B. burgdorferi* sl.

## 2. Metodi

Modello della popolazione di *I. ricinus*.

La dinamica di popolazione di *I. ricinus* è stata simulata con STELLA II (Systems Thinking Experiential Learning Laboratory, High Performance Systems, Hanover, NH, USA), un software ad interfaccia grafica le cui componenti (icone) sono connesse fra di loro secondo rapporti caratteristici del sistema da rappresentare (STELLA II, 1990).

Sulla base della disponibilità di materiale bibliografico, nell'impostazione della struttura del modello ho utilizzato informazioni relative al ciclo di *I. scapularis* (sinonimo di *I. dammini*; Oliver *et al.*, 1993), che è il principale vettore della borreliosi di Lyme in America settentrionale. Un modello a matrici, con l'uso di foglio

elettronico, sviluppato da Sandberg *et al.* (1992) per *I. scapularis*, ha costituito un utile punto di riferimento per la costruzione di questo modello. Dati relativi al ciclo di *I. ricinus* sono stati incorporati in una seconda fase.

In STELLA, la popolazione di *I. ricinus* è suddivisa in quattro stadi discreti: uova, larve, ninfe, ed adulti. Le zecche appartenenti ai tre stadi attivi sono ulteriormente classificati come “in cerca di ospite” e “nutrite” (dopo aver assunto un pasto di sangue da un ospite) (Figura 1). L'unità di tempo utilizzata (“time step”), che determina la risoluzione temporale del modello, è fissata in 1/2 mese; un anno è quindi diviso in 24 unità di tempo.

La schiusa delle uova (il passaggio, cioè, dallo stato di uova a larve in cerca di ospite) avviene al tempo 14 del primo anno di simulazione (fine luglio), e si ripete con una ciclicità annuale (ogni 24 unità di tempo). Le larve possono nutrirsi su tre categorie di ospiti: “topi” (piccoli roditori), “Caprioli” (ungulati selvatici), ed “altre specie” (che possono comprendere mammiferi di media taglia, uccelli, e rettili). Secondo l'andamento stagionale descritto per le zecche nelle aree endemiche per borreliosi di Lyme in USA ed in Europa (Yuval & Spielman, 1990), l'attività delle larve nel modello, e quindi l'assunzione di un pasto di sangue, è limitata ai tre mesi successivi alla schiusa (agosto, settembre, ed ottobre: estate I, nel diagramma, Figura 1), ed ai mesi di maggio e giugno dell'anno successivo (primav II). Questa transizione, da larve in cerca di ospite a larve nutrite, è data dal prodotto fra il numero di larve in cerca di ospite ed il tasso di attaccamento ad un ospite (TI), calcolato con l'equazione (1):

$$TI = \sum_o 1 - e^{-a\omega} \quad (1)$$

Il tasso di attaccamento è quindi uguale alla somma delle probabilità di nutrimento di una zecca su ciascuna delle specie ospite o in un'unità di tempo. Nell'equazione,  $e$  è la base dei logaritmi naturali, ed  $a$  è un parametro che descrive il rapporto fra la zecca e la specie ospite  $o$ . Secondo questo approccio, l'attaccamento di una larva ad un ospite vertebrato è descritto dalla distribuzione di Poisson, in cui il parametro  $\omega$  corrisponde al numero medio di ospiti della specie  $o$  trovati in un'unità di tempo. Di conseguenza,  $e^{-a\omega}$  è uguale alla probabilità di zero eventi nell'intervallo di tempo considerato, ed  $1 - e^{-a\omega}$  corrisponde alla probabilità di attaccamento all'ospite (e successivo nutrimento

to della zecca). I valori di  $a$  sono assegnati a ciascun gruppo di ospiti in base al loro ruolo nel nutrimento delle larve, riportato in letteratura (Sandberg *et al.*, 1992; K urtenbach *et al.*, 1995).

Il 50% delle larve che hanno assunto un pasto di sangue muta allo stadio di ninfa, mentre le rimanenti larve muoiono in luglio, prima della schiusa della generazione successiva. La percentuale di muta negli Ixodidae è molto variabile in quanto influenzata dalle condizioni microclimatiche e da fattori legati all'ospite. In uno studio eseguito da Mannelli *et al.*, (1993) su *I. scapularis*, la percentuale di schiusa delle larve variava dal 32 al 97%. Una percentuale di muta del 50% è quindi una stima accettabile.

Per semplicit , il tasso di attaccamento all'ospite delle ninfe   mantenuto costante al 5% per “time step” di attivit . Una prima coorte di ninfe si nutre nel periodo maggio-giugno (ninf I), mentre una seconda (ninf II) sverna e si nutre la primavera successiva. La sopravvivenza delle ninfe per pi  di un anno, e la conseguente possibilit  che due generazioni siano contemporaneamente attive,   stata dimostrata (Yuval & Spielman, 1990).

Dopo l'assunzione del pasto di sangue, le ninfe I e II mutano allo stadio di adulti. Le zecche adulte possono nutrirsi in ottobre – novembre e da gennaio ad aprile. Il tasso di attaccamento all'ospite da parte delle zecche adulte   calcolato analogamente a quello delle larve (equazione 1), ma considerando solamente il Capriolo come specie ospite. Sia gli adulti nutriti in autunno che quelli nutriti in inverno – primavera, depongono 1000 uova che, schiudendosi in agosto, danno origine ad una nuova generazione di zecche.

### 2.1. Infezione delle larve con *Borrelia burgdorferi* sl.

La proporzione delle larve che acquisisce l'infezione a seguito del nutrimento sugli ospiti (BI),   calcolata come il rapporto fra la proporzione delle larve in cerca di ospite che si infetta su ospiti competenti, e la proporzione globale delle larve che si nutre (equazione 2):

$$BI = \frac{\sum_o p_o B_o I_o}{\sum_o p_o} \quad (2)$$

dove  $p_o$  = proporzione delle larve in cerca di ospite che si nutre sulla specie ospite  $o$ ;  $B_o$  = prevalenza dell'infezione da *Borrelia burgdorferi* sl nella specie ospite  $o$ ;  $I_o$  = proporzione delle larve che acquisisce spirochete a seguito del nutrimento su individui infetti della specie  $o$ . Il

prodotto  $B_o I_o$  è fissato a 0,7 per i topi ed a 0,2 per le altre specie. Le larve che si nutrono sui caprioli non si infettano e, nell'eq. 2, contribuiscono al solo denominatore ( $B_o I_o = 0$ ).

## 2.2. Simulazione

La simulazione inizia con la schiusa di 1000 uova che danno luogo ad altrettante larve in cerca di ospite nel mese di agosto. Sono considerati tre diversi scenari relativi alla composizione delle popolazioni ospiti. Nel primo scenario, sono presenti 50 topi/ha e 5 caprioli/100 ha. Nel secondo, sono presenti 30 caprioli/100 ha, mentre nel terzo, l'aumento della popolazione dei caprioli è accompagnato da una riduzione della popolazione dei topi a 12,5 individui/ha. La popolazione degli "altri ospiti" è costante (10 individui/ha) in tutte le simulazioni. I risultati delle simulazioni nei tre scenari sono messi a confronto per quel che riguarda: 1) il numero di ninfe I in cerca di ospite dopo dieci anni; 2) il tasso riproduttivo annuale, R,

della popolazione di zecche; 3) la prevalenza d'infezione da *B. burgdorferi* sl nelle ninfe in cerca di ospite.

## 3. Risultati

In tutti gli scenari considerati, il modello produce una crescita esponenziale della popolazione di *I. ricinus*. La simulazione con 50 topi/ha e 5 caprioli/100 dà luogo ad una lenta crescita della popolazione, con un tasso riproduttivo annuo  $R=1,1$ . Dopo 10 anni di simulazione, le 1000 uova iniziali danno origine a 93 ninfe I in cerca di ospite, in cui la prevalenza di *B. burgdorferi* sl è del 52% (Fig. 2).

Aumentando la popolazione dei caprioli a 30 capi/100 ha, si osserva una crescita della popolazione di zecche molto più rapida. Infatti, nel secondo scenario, R arriva 2,9 e, dopo 10 anni di simulazione, sono presenti 58652 ninfe I in cerca di ospite, e la prevalenza delle spirochete è ridotta al 32%. Riducendo la densità di popolazione dei topi (terzo scenario), si ottiene un

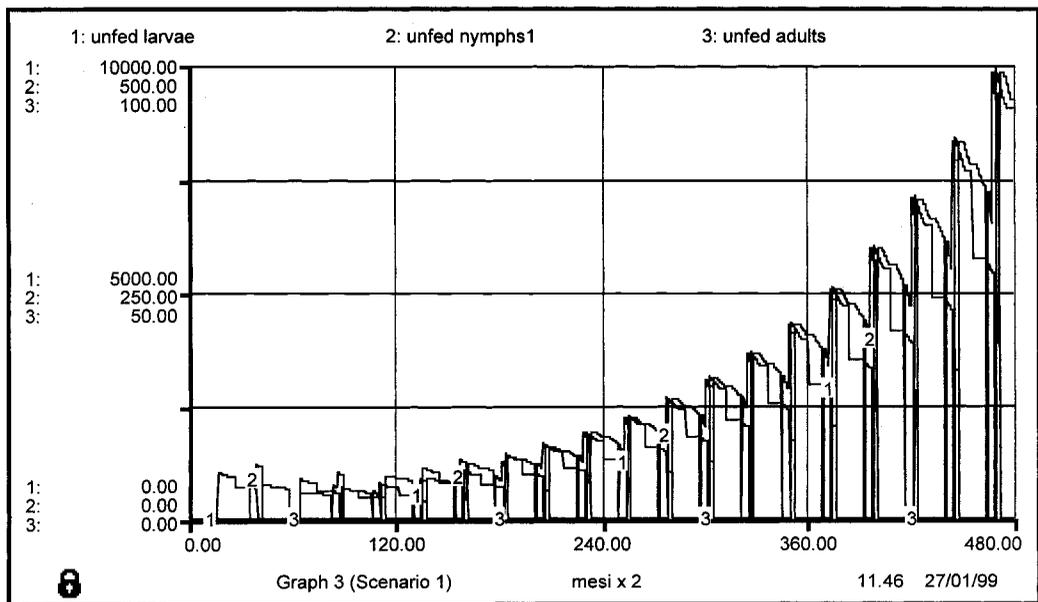


Fig. 1 – Diagramma semplificato del modello di simulazione della popolazione di *Ixodes ricinus*, costruito con STELLA II. Per chiarezza, sono riportate in dettaglio solo le relazioni che sono alla base dell'attaccamento all'ospite (e successivo nutrimento) delle larve. Il tasso di attaccamento all'ospite è determinato con la seguente sintassi:  $1 - \text{EXP}(-\text{alfa\_topi} * \text{topi}) + 1 - \text{EXP}(-\text{alfa\_Caprioli} * \text{Caprioli}) + 1 - \text{EXP}(-\text{alfa\_altri\_ospiti} * \text{altri\_ospiti})$ , che corrisponde all'equazione 1. Tempo di inizio, durata, e periodicità annuale del "pasto sangue estate I" sono regolati da Sinwave 1: Delay (Sinwave(0,6,24),11). La funzione Delay ritarda l'attivazione, al tempo 11, di una fluttuazione sinusoidale di ampiezza 0,6 e periodo 24 (un anno). La sintassi  $\text{If}(\text{Sinwave\_1} > 0,419) \text{ then} (\text{Larve\_in\_cerca\_di\_ospite} * \text{tasso\_attaccamento\_all'ospite}) \text{ else} (0)$  limita l'attaccamento agli ospiti da parte delle larve all'intervallo di tempo in cui la fluttuazione, regolata da Sinwave\_1, assume valori superiori a 0,419 (i mesi di agosto, settembre, ed ottobre).

tasso di crescita della popolazione delle zecche intermedia rispetto a quelle dei primi due scenari ( $R = 2,1$ ), con 7461 ninfe in cerca di ospiti dopo 10 anni. La prevalenza di *B. burgdorferi* sl nelle ninfe è invece assai ridotta (20%).

#### 4. Discussione

La costruzione di un modello con un ambiente grafico ha permesso di concentrare l'attenzione sugli aspetti ecologici del sistema piuttosto che sullo sforzo di programmazione (cfr. Legaspy *et al.*, 1997). Inoltre, con questo tipo di modello, è possibile rappresentare e simulare con una certa facilità sistemi complessi, caratterizzati da numerosi parametri (pur non raggiungendo i livelli di precisione e correttezza formale dei modelli matematico-analitici) (Hess, 1996).

Epidemiologi ed ecologi senza una conoscenza approfondita della matematica possono quindi utilizzare il modello per comprendere i rapporti fra le componenti del sistema in studio, e per generare ipotesi ed individuare gli aspetti sui quali indirizzare la ricerca (Kitron & Mannelli, 1994).

Normalmente, le unità fondamentali dei modelli epidemiologici sono individui che vengono classificati in base al loro stato sanitario rispetto alla malattia in studio (per esempio: suscettibili, malati, immuni) (Martin *et al.*, 1987). Per studiare la dinamica di trasmissione della borreliosi di Lyme, è stato invece costruito un modello della popolazione del vettore, *I. ricinus*. Infatti, la dinamica di popolazione della zecca, ed i rapporti fra il vettore e gli ospiti vertebrati e l'ambiente sono i principali determinanti ecologici del rischio di questa zoonosi. Inoltre, la popolazione di *I. ricinus*, caratterizzata da quattro stadi di sviluppo discreti, si presta particolarmente bene ad essere rappresentata con STELLA II. La simulazione ha dimostrato la coerenza logica del modello, dando origine ad una struttura della popolazione verosimile (Fig. 2) (cfr. Sandberg *et al.*, 1992).

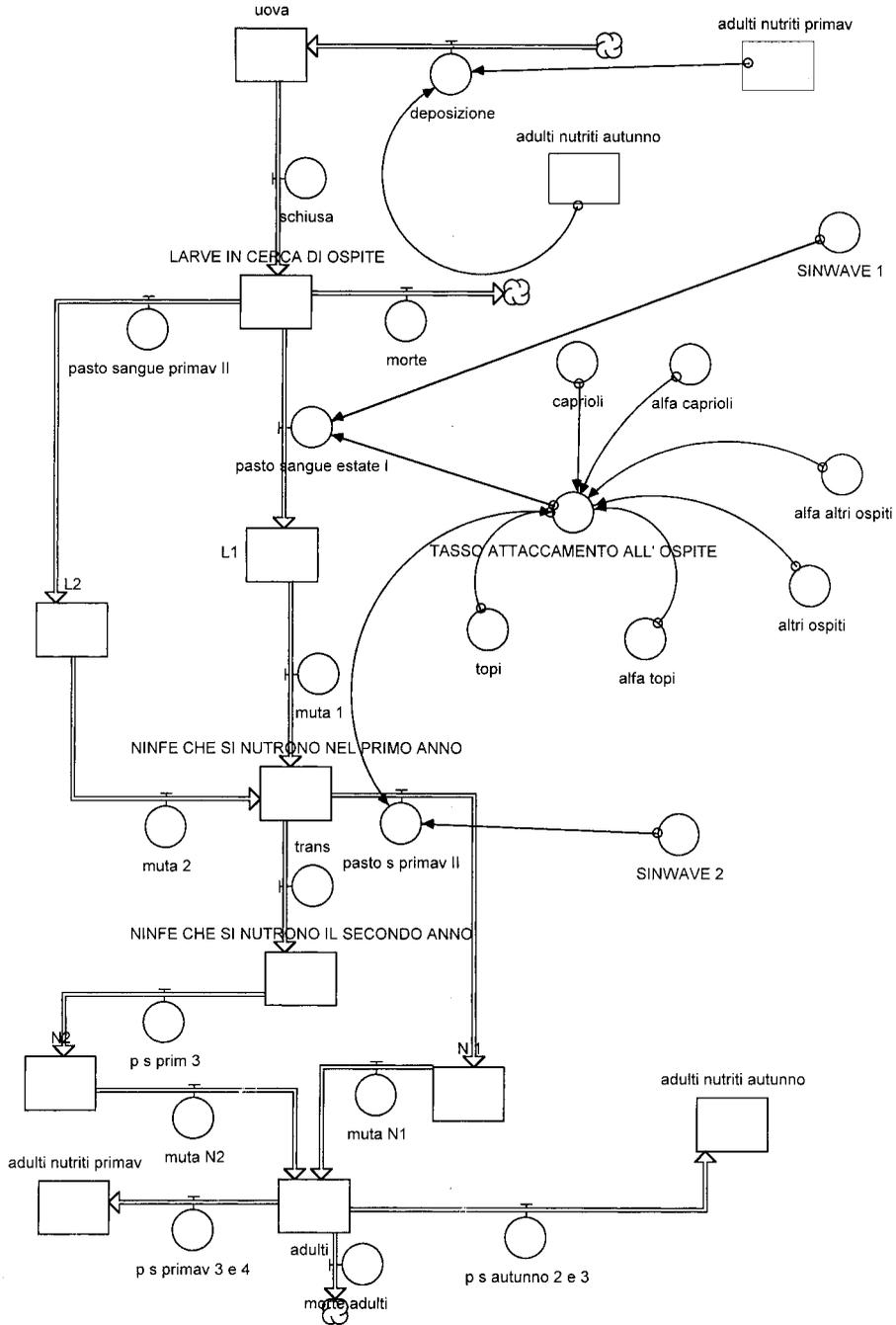
L'obiettivo principale del modello era lo studio dell'effetto di cambiamenti numerici delle popolazioni di animali selvatici sulla frequenza di *B. burgdorferi* sl nelle zecche in cerca di ospiti. A questo scopo, ho utilizzato le conoscenze finora disponibili (ma non per questo definitive e valide per tutte le aree geografiche) che attribuiscono ai cervidi il ruolo più importante per il mantenimento della popolazione di *I. ricinus*, ed ai piccoli roditori il ruolo chiave per il mantenimento in natura di *B. burgdorferi* sl. La simulazione ha dimostrato che la popolazione di *I. ricinus* può andare incontro ad una rapida

crescita anche in condizioni di bassa densità di roditori. Questo è in disaccordo con quanto ipotizzato nella simulazione di Sandberg *et al.* (1992) (in cui i topi erano necessari per mantenimento di *I. scapularis*) a causa del più basso ruolo che gli autori americani avevano attribuito ai cervidi come ospiti per gli stadi immaturi delle zecche. In Europa, autori tedeschi hanno invece dimostrato che caprioli e daini possono fornire nutrimento a numeri elevati di larve di *I. ricinus* (Matuschka *et al.*, 1993). Risultati analoghi (sebbene preliminari) stanno scaturendo da ricerche in corso in Piemonte (Peyrot *et al.*, 2003).

Nel modello, l'aumento della popolazione dei caprioli provoca la riduzione della prevalenza di *B. burgdorferi* sl nelle zecche, dal 52% del primo scenario (5 caprioli / 100 ha) al 32% del secondo scenario (30 caprioli / 100 ha), a causa dell'incompetenza degli ungulati come serbatoi per le spirochete. Il rischio di infezione per l'uomo e gli animali suscettibili (per esempio, il cane) cresce però insieme all'abbondanza degli ungulati, in quanto queste specie amplificano notevolmente la popolazione di zecche (93 ninfe I in cerca di ospite nello scenario 1 contro 58652 ninfe I nello scenario 2). Questo risultato è in accordo con studi di campo eseguiti in Europa settentrionale (Gray *et al.*, 1992; Talleklint & Jaenson, 1996), e rappresenta quindi una validazione (anche se solo qualitativa) della simulazione.

La densità della fauna sul territorio può cambiare notevolmente in aree geografiche diverse e, nella stessa area geografica, può andare incontro ad ampie fluttuazioni temporali, sia per cause naturali (disponibilità di cibo ed ambiente idoneo, cicli naturali) sia per intervento dell'uomo. Il controllo numerico della fauna può quindi anche essere considerato un mezzo di prevenzione e controllo delle zoonosi. Di conseguenza, la conoscenza del ruolo di ogni specie di animali selvatici nel mantenimento di *I. ricinus* e nella trasmissione di *B. burgdorferi* sl è un importante obiettivo in ecopatologia della fauna.

Nella costruzione del modello, è stata dedicata un'attenzione particolare all'attaccamento all'ospite da parte delle larve, che è una fase critica per l'infezione delle zecche con le spirochete. Al contrario, il limite di questa versione preliminare del modello è la mancanza di un rapporto fra la prevalenza di *B. burgdorferi* sl nelle zecche in cerca di ospite e la prevalenza nei serbatoi (topi ed altri ospiti). La capacità dei serbatoi di trasmettere spirochete alle zec-



**Fig. 2** – Numero delle zecche appartenenti agli stadi attivi di *I. ricinus* (larve, ninfe I, ed adulti), dopo 20 anni di simulazione del modello costruito con STELLA II, a partire dalla deposizione di 1000 uova, nello scenario 1 (50 topi / ha; 10 “altri ospiti” / ha; 5 Caprioli / 100 ha). In questo scenario, la crescita della popolazione è irregolare durante i primi 5 anni (120 “time steps”), e diviene esponenziale fra i 5 ed i 10 anni, con  $R=1,1$ .

che è quindi la stessa nei tre scenari. Sarà perciò necessario integrare il modello della popolazione delle zecche con uno relativo agli ospiti/serbatoi, la cui capacità di infettare le zecche possa variare con la frequenza ed il tempo dell'infestazione da parte di zecche infette (Talleklint *et al.*, 1993). Inoltre, l'andamento temporale delle attività della zecche, e quindi le transizioni da "in cerca di ospite" a "nutrite", e da uno stadio al successivo, può variare notevolmente nelle diverse aree geografiche ed influenzare la trasmissione di *B. burgdorferi* s.l. (Yuval & Spielman, 1990). In aree mediterranee, caratterizzate da inverni miti, per esempio, le zecche possono essere attive durante tutto l'anno, e l'inserimento di dati raccolti sul campo permetterà di adattare il modello a tale tipo di clima. Infine, utilizzando i risultati della simulazione per soli 10 anni, non è stato necessario inserire nel modello dei meccanismi di controllo densità-dipendenti della popolazione (per esempio, limitazioni alle cariche parassitarie sugli ospiti), che sarebbero necessari per tempi di simulazione più lunghi.

### Bibliografia

- CINCO M., PADOVAN R., MURGIA R., POLDINI L., FRUSTERI L., VAN DE POL I., VERBEEK-DE KRUIF N., RIJKEMA S. & MAROLI M. (1998A) - Rate of infection of *Ixodes ricinus* ticks with *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii* and group VS116 in an endemic focus of Lyme disease in Italy. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 17: 90-94.
- CINCO M., PADOVAN R., MURGIA R., FRUSTERI L., MAROLI M., VAN DE POL I., VERBEEK-DE KRUIF N. & RIJKEMA S. (1998B) - Prevalence of *Borrelia burgdorferi* infection in *Ixodes ricinus* in central Italy. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 17: 134-135.
- ESTRADA-PENA A., DANIEL M., FRANDSE F., GERN L., GETTINBY G., GRAY J. S., JAENSON T. G. T., JONJEAN F., KAHL O., KORENBERG E., MEHL R. & NUTTALL P. A. (1998) - *Ixodes ricinus* strains in Europe. *Zent.bl. Bakteriol.*, 287: 185-189.
- FILIPPOVA N. 1990 - Taxonomic aspects of the Lyme disease agent vector (in Russo). *Parassitologia*, 24: 257-267.
- GENCHI C., RIZZOLI A. P., FABBI M., SAMBRI V., MANFREDI M. T., MAGNINO S., MORONI A., MASSARIA F. & CEVENINI R. (1994) - Ecology of *Borrelia burgdorferi* in some areas of northern Italy. In: Cevenini R, Sambri V, La Placa M (eds), *Advances in Lyme borreliosis research. Proceedings of the VI International Conference on Lyme Borreliosis*. Bologna: Società Editrice Esculapio, pp. 232-234.
- GERN L., ESTRADA-PENA A., FRANDSEN F., GRAY J. S., JAENSON T. G. T., JONJEAN F., KAHL O., KORENBERG E., MEHL R. & NUTTALL P. A. (1998) - European reservoir hosts of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *Zent.bl. Bakteriol.* 287: 196-204.
- GINSBERG H. S. (1988) - A model of the spread of Lyme disease in natural populations. *Ann. New York Acad. Sci.*, 593: 379-380.
- GRAY J. S., KAHL O., JANETZKI C. & STEIN J. (1992) - Studies on the ecology of Lyme disease in a Deer forest in County Galway, Ireland. *J. Med. Entomol.*, 29: 915-920.
- GRAY J. S., KAHL O., ROBERTSON J. N., DANIEL M., ESTRADA-PENA A., GETTINBY G., JAENSON T. G. T., JENSEN P., JONJEAN F., KAHL O., KORENBERG E., KURTENBACH K. & ZEMAN P. (1998) - Lyme borreliosis habitat assessment. *Zent.bl. Bakteriol.*, 287: 211-228.
- HESS G. R. (1996) - To analyze, or to simulate, is that the question? *Am. Entomol.*, 42: 14-16.
- JAENSON T. G. T. (1991) - The epidemiology of Lyme borreliosis. *Parasitology Today*, 2: 39-45.
- JAENSON T. G. T. & TALLEKLINT L. (1992) - Incompetence of roe Deer as reservoir of the Lyme borreliosis spirochete. *J. Med. Entomol.*, 29: 813-817.
- KIMURA K., ISOGAI E., ISOGAI H., KAMEKAWA Y., NISHIKAWA T., ISHII N. & FUJII N. (1995) - Detection of Lyme disease spirochetes in the skin of naturally infected wild sika Deer (*Cervus nippon yezoensis*) by PCR. *Appl. Envir. Microbiol.*, 61: 1641-1642.
- KITRON U. & MANNELLI A. (1994) - Modeling the ecological dynamics of tick-borne zoonoses. In: Sonenshine DE, Mather TN (eds), *Ecological Dynamics of Tick-Borne Zoonoses*. New York: Oxford University Press, VII: 198-239.
- KURTENBACH K., KAMPEN H., DIZIJ A., ARNDT S., SEITZ H., M., SCHAIKLE U., E. & SIMON M. (1995) - Infestation of rodents with larval *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) is an important factor in the transmission cycle of *Borrelia burgdorferi* s.l. in German woodlands. *J. Med. Entomol.*, 32: 807-817.
- LANE R. S. & BURGDORFER W. (1986) - Potential role of native and exotic Deer and their associated ticks (Acari: Ixodidae) in the ecology of Lyme disease in California, USA. *Zent.bl. Bakteriol. Hyg. A.*, 263: 55-64.
- LEGASPY B. C., CARRUTHERS R. I. & LARKIN T. S. (1997) - New graphical modeling environments—time to reconsider simulation modeling? *Am. Entomol.*, 43: 105-116.
- MANNELLI A., KITRON U., JONES C. J. & SLAJCHERT T. L. (1993) - *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) infestation on medium-sized mammals and blue jays in northwestern Illinois. *J. Med. Entomol.*, 30: 950-952.
- MANNELLI A., CERRI D., BUFFRINI L., ROSSI S., ROSATI S., ARATA T., INNOCENTI M., GRIGNOLO M. C., BIANCHI G., IORI A. & TOLARI F. (1999) - Low risk of Lyme borreliosis in a protected area on the Tyrrhenian coast, in central Italy. *Eur. J. Epidemiol.*, 15: 371-377.
- MARTIN S. W., MEEK A. H. & WILLEBERG P. (1987) - *Veterinary epidemiology: principles and methods*. Iowa State University Press, Ames, USA.
- MATHER T. N. & GINSBERG H. S. (1994) - Vector-host

- pathogen relationship: transmission dynamics of tick-borne infections. In: Sonenshine DE, Mather TN (eds), *Ecological Dynamics of Tick-Borne Zoonoses*. New York: Oxford University Press, IV: 3-19.
- MATUSCHKA F. R., HEILER M., EIFFERT H., FISCHER P., LOTTER H. & SPIELMAN A. (1993) - Diversionary role of hooved game in the transmission of Lyme disease spirochetes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 48: 693-699.
- OLIVER, J.H., OWSLEY, M., HUTCHESON, H.J., JAMES, A. M., CHEN, C., IRBY, W.S., DOTSON, E.M., AND MCCLAIN & D.K. (1993) - Conspicuity of the ticks *Ixodes scapularis* and *I. dammini* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.*, 30: 54-63.
- PEYROT R., MANNELLI A., DE MENEGHI D. & MENEGUZZI P.G. (2003) - Indagini sul ruolo dei roditori selvatici e del capriolo come ospiti per *Ixodes ricinus* (Ixodidae). *J.Mt.Ecol.*, 7:XX-XX
- PIESMAN J., GRAY J. S. (1994) - Lyme disease/Lyme borreliosis. In: Sonenshine DE, Mather TN (eds), *Ecological Dynamics of Tick-Borne Zoonoses*. New York: Oxford University Press, XI: 327-350.
- RANDOLPH S. E. AND CRAINE N. (1995) - General framework for comparative quantitative studies on transmission of tick-borne diseases using Lyme borreliosis in Europe as an example. *J. Med. Entomol.*, 32: 765-777.
- SANDBERG S., AWERBUCH T. E. & SPIELMAN A. (1992) - A comprehensive multiple matrix model representing the life cycle of the tick that transmits the agent of Lyme disease. *J. theor. Biol.*, 157: 203-220.
- STELLA II (1990) - *User's guide*. High Performance Systems, Inc. Hanover, USA.
- TALLEKLINT L. & JAENSON T. G. T. (1994) - Transmission of *Borrelia burgdorferi* s.l. from mammal reservoirs to the primary vector of Lyme borreliosis, *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae), in Sweden. *J. Med. Entomol.*, 31: 880-886.
- TALLEKLINT L. & JAENSON T. G. T. (1996) - Relationship between *Ixodes ricinus* density and prevalence of infection with *Borrelia*-like spirochetes and density of infected ticks. *J. Med. Entomol.*, 33: 805-811.
- TALLEKLINT, L., JAENSON, T. G. T., MATHER & T. N. (1993) - Seasonal variation in the capacity of the bank vole to infect larval ticks (Acari: Ixodidae) with the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*. *J. Med. Entomol.*, 30: 812-815.
- TELFORD S. R., MATHER T. N., MOORE S. I., WILSON M. L. & SPIELMAN A. (1988) - Incompetence of Deer as reservoir of the Lyme disease spirochete. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 39: 105-109.
- WILSON M. L., DUCEY A. M., LITWIN T. S., GAVIN T A. & SPIELMAN A. (1990) - Microgeographic distribution of immature *Ixodes dammini* ticks correlated with that of Deer. *Med. Vet. Entomol.*, 4: 151-159.
- YUVAL B. & SPIELMAN A. (1990) - Duration and regulation of the developmental cycle of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.*, 27: 196-201.

# EPIDEMIOLOGIA DELLE MICOBATTERIOSI NEL CINGHIALE IN LIGURIA

Dini V.\*, Ferroglio E.\*\*, Serraino\*\*\*, Mignone W.°, Sanguinetti V.\*\*\*, Bollo E.°, Rossi L.\*\*

\*USL 2 Savonese. Savona

\*\*Dipartimento di Produzioni Animali, Epidemiologia ed Ecologia. Università di Torino

\*\*\*Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale. Università di Bologna

°Istituto Zooprofilattico del Piemonte Liguria e Val d'Aosta. Sez. di Imperia

°°Dipartimento di Patologia Animale. Università di Torino.

**Riassunto** - Al fine di chiarire l'epidemiologia della tubercolosi nel cinghiale sono stati esaminati i linfonodi sottomandibolari e retrofaringei di 2488 capi abbattuti durante il 1995 nelle province di Imperia e Savona. Lesioni riconducibili ad infezione tubercolare sono state individuate in 300 animali (12.1%). Inoltre, 113 campioni su 257 analizzati con una sonda DNA (Gen-Probe *Mycobacterium tuberculosis* complex Test) sono risultati positivi per micobatteri appartenenti al *M. tuberculosis* complex. L'isolamento in coltura è stato tentato dai linfonodi di 125 cinghiali esaminati nel periodo 1993/95 e da 16 bovini provenienti dall'area di studio. Isolati sono stati ottenuti in 27 casi dal cinghiale (16 *M.bovis*, 6 *M.avium*, 1 *M.tuberculosis* e 4 ceppi di micobatteri a rapida crescita) ed in 15 casi dai bovini (tutti *M.bovis*). Gli isolati sono stati analizzati con la metodica dello spoligotyping che ha permesso di evidenziare come un unico spoligotipo prevalga nella maggior parte dei cinghiali e dei bovini esaminati. Sulla base dei dati raccolti (localizzazione delle lesioni, limitate ai linfonodi della testa; quadro istopatologico; risultati dell'isolamento e dello spoligotyping; situazione sanitaria del bestiame domestico), il cinghiale non sembra avere un ruolo importante nel mantenimento dell'infezione da *M.bovis* nell'area di studio.

**Abstract - Epidemiology of Mycobacteriosis in wild boar in Liguria (Northern Italy).** During the 1995 hunting season, submandibular and retropharyngeal lymph nodes of 2488 wild boars (*Sus scrofa*) were examined for tubercular lesions and these were found in 300 animals (12.1%). A macroscopic and histologic description of TB lesions was given for 261 and 179 animals respectively. *Mycobacterium tuberculosis* complex and *M. avium* complex tests, performed on 246 lesioned lymph nodes, reacted positively in 112 (43.6%) and 11 (4.3%) cases respectively. Isolates were obtained from 27 wild boars and 16 cows slaughtered because of positivity at the tuberculin skin test. All cow and 16 wild boar isolates were classified as *M. bovis*. Isolates were analyzed with Spoligotyping. Results show that one strain is most common in both wild boars and cows. Based on the macroscopic and microscopic aspect of lesions, their localization, isolation and spoligotyping results and the sanitary situation of livestock, wild boars do not seem to be important in maintaining and spreading *M.bovis* in the study area.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 145 - 153

## 1. Introduzione

Riportata per la prima volta all'inizio degli anni '30 in Germania (Kindinger, 1934), la tubercolosi nel cinghiale, includendo nel termine "cinghiale" anche le varie popolazioni di "feral pigs" (Briedermann, 1986), è stata successivamente segnalata in UdSSR (Starodinova, 1974), Bosnia-Erzegovina (Ivetic & Sudaric, 1987), Slovacchia (Kalenski, 1992), Germania (Kurtze, 1961; Schultz *et al.*, 1992), Australia (Letts, 1964; Corner *et al.*, 1981; McInerney *et al.*, 1995), Nuova Zelanda (Ekdhal, 1970; Collins, 1988), Hawaii (Essey *et al.*, 1983), California (Allison, 1967; Smith, 1997) ed Italia (Mignone *et al.*, 1991; Biolatti *et al.*, 1992; Mignone *et al.*, 1996; Ferroglio e Rossi, 1996). Mentre alcune segnalazioni riguardano casi sporadici (Kindinger, 1934; Kurtze, 1961; Ivetic & Sudaric, 1987; Kalenski, 1992; McInerney *et al.*, 1995), spesso non supportati dall'isolamento

dell'agente eziologico (Kurtze, 1961; Ivetic & Sudaric, 1987), altre si riferiscono a situazioni in cui la patologia, caratterizzata da prevalenze talora superiori al 10%, pare essere endemica nelle popolazioni di cinghiali (Letts, 1964; Corner *et al.*, 1981; Essey *et al.*, 1983; Schultz *et al.*, 1992; Mignone *et al.*, 1996; Smith, *com. pers.* 1997). È questo il caso verificatosi in Liguria dove la prevalenza della tubercolosi nel cinghiale pare assestata su valori piuttosto elevati (15% circa) anche in aree in cui è in fase di eradicazione nei domestici e non paiono esservi altri serbatoi dell'infezione (Mignone *et al.*, 1991; Biolatti *et al.*, 1992; Mignone *et al.*, 1996).

Scopo di questo contributo è fornire una sintesi delle esperienze da noi maturate, a partire dal 1995, sull'eziologia ed epidemiologia della tubercolosi nei cinghiali delle province di Savona ed Imperia.

## 2. Materiali e metodi

### 2.1. Raccolta campioni

La raccolta dei campioni ha interessato capi prelevati durante l'attività venatoria nella stagione 1995; per la tipizzazione dei micobatteri, tuttavia, sono stati utilizzati anche campioni raccolti nelle annate 1993 e 1994 (3 campioni per annata). I campioni sono stati prelevati in parte presso punti di controllo della selvaggina (qui erano disponibili sia la carcassa che i visceri) e in parte presso altre strutture, quali i presidi sanitari di Savona, Carcare, Imperia e Pieve di Teco e l'Istituto Zooprofilattico di Imperia (dove venivano presentate le sole teste).

Considerato che nel cinghiale, come in altre specie selvatiche, i linfonodi della testa rappresentano la sede di più facile riscontro delle lesioni da micobatteri (Itoh *et al.*, 1992; Griffin & Buchan, 1994; Nolan & Wilesmith, 1994; Lugton *et al.*, 1997; Smith, 1997), si è sempre provveduto ad un esame ispettivo dei linfonodi retrofaringei e sottomandibolari. In caso di rinvenimento di una lesione sospetta il linfonodo veniva suddiviso in due aliquote di cui una, destinata alla diagnosi mediante sonde genetiche, veniva congelata e l'altra, destinata all'istopatologia, veniva posta in formalina tampinata al 10%. Il linfonodo controlaterale non veniva aperto, onde evitare problemi di cross-contaminazione, ma stoccato e impiegato per l'isolamento. Quando possibile, per ogni capo che presentava lesioni sospette venivano registrate la provenienza, il sesso e l'età secondo Briedermann (1986).

### 2.2. Istopatologia

Per quanto riguarda l'indagine istopatologica, i campioni di tessuto, fissati in formalina tampinata al 10%, sono stati inclusi in paraffina. Per ogni campione sono state eseguite almeno 4 microsezioni, che sono state colorate con ematossilina-eosina ed esaminate al microscopio ottico. I tessuti mineralizzati, reperto non infrequente vista la patologia, sono stati decalcificati in acido cloridrico. In base alle caratteristiche istopatologiche le lesioni sono state classificate nelle seguenti categorie:

nodulo tubercolare sclero-caseoso = T;  
 nodulo tubercolare sclero-caseo-calcifico = TC;  
 nodulo tubercolare sclero-caseo-calcifico con fibrosi = TCF;  
 nodulo tubercolare sclero-caseoso con fibrosi = TF.

### 2.3. Sonde genetiche

Sono stati utilizzati due test: il *Mycobacterium*

*tuberculosis* complex Direct Test – MTD, in grado di evidenziare la presenza di micobatteri del *Mycobacterium tuberculosis* complex e l'Accuprobe *Mycobacterium avium* complex Test, in grado di evidenziare la presenza di micobatteri del *Mycobacterium avium* complex. Diversi studi clinici confermano l'alta sensibilità (93%) e specificità (98%) dei test sia per quanto riguarda l'MTD, 93% e 98% rispettivamente (Abe *et al.*, 1993; Jonas *et al.*, 1993; LoRocco *et al.*, 1993; Bodmar *et al.*, 1994; Miller *et al.*, 1994; Pfyffer *et al.*, 1994), sia per l'Accuprobe *Mycobacterium avium* complex Test (Drake *et al.*, 1987; Gonzales e Hanna, 1987; Kiehn e Edwards, 1987; Musial *et al.*, 1988; Salto *et al.*, 1989).

Sebbene questi kit siano nati per l'identificazione rapida dei micobatteri partendo dalle colture, l'MTD si è rivelato valido anche per la ricerca dei micobatteri in campioni di tessuto (Ehlers *et al.*, 1993; Bollo *et al.*, 1998).

Per l'esecuzione delle prove con sonde genetiche, dai campioni scongelati è stata prelevata una porzione di circa 2 g di tessuto lesionato. Questa aliquota, triturrata in una capsula Petri, è stata trasferita in un sacchetto con eguale volume di acqua distillata e omogeneizzata per 120 sec. (Stomacher 80 Laboratory Blender, Seward Medical, London, U.K.). Il fluido risultante, raccolto in tubi Falcon da 15ml, è stato decontaminato con NaOH/SDS, centrifugato a 2500 rpm, ed il sedimento ripreso con acqua distillata sterile. In una provetta di lisi si aggiungono a 50 µl del sedimento ripreso 200 µl Specimen Dilution Buffer e si sonica a 65 °C per 15 minuti. 50 ml del lisato vengono poi incubati a 95 °C per 15 minuti con 25 µl dell'Amplification Reagent, e successivamente per 2 ore a 42 °C con 25 µl dell'Enzyme reagent (questo passaggio permette di amplificare uno specifico segmento di RNA). Al termine delle 2 ore la reazione viene bloccata con il Terminator Reagent lasciato agire per 10 minuti alla stessa temperatura. A questo punto si aggiungono 100 µl del Probe reagent (la sonda-DNA legata con composto chemiluminescente), e si incuba per 15 minuti a 60 °C; successivamente si aggiungono 300 µl di Selection reagent (in grado di legarsi alle sonde-DNA non ibridizzate) e dopo 10 minuti a 60°C si passa alla lettura al chemiluminometro.

I risultati, espressi in RLU (Relative Light Units), vengono considerati positivi se superano il valore soglia di 30.000 RLU.

Per quanto riguarda l'esecuzione dell'Accuprobe test, che per ragioni economiche è stato

effettuato solo su campioni negativi al MTD test, la procedura si presenta ridotta in quanto non è presente la fase di amplificazione. Per questa prova il processo di decontaminazione è simile a quello descritto per il test MTD. A 100 ml del campione decontaminato vengono aggiunti, 100 µl di Lysis reagent e 100 µl di Hybridization buffer, dopodiché le provette vengono sonicate per 15 minuti a 65 °C e incubate a 95°C per 10 minuti. Terminata questa fase (il cui scopo è liberare l'RNA batterico), 100 µl della soluzione vengono pipettati nelle provette in cui è presente la sonda DNA liofilizzata e si incuba per 15 minuti a 95 °C. Successivamente si aggiungono 300 µl di Selection reagent e dopo 5 minuti di incubazione a 60 °C si passa alla lettura al chemilumino-metro. Come per il test precedente i risultati, espressi in RLU (Relative Light Units), vengono considerati positivi se superano il valore soglia di 30.000 RLU.

#### 2.4. Isolamento

Sono stati messi in coltura 124 linfonodi di cinghiali, di cui 8 campioni prelevati nel 1993 e nel 1994 nella sola Provincia di Imperia, e i rimanenti prelevati nel 1995 sull'intera zona di studio. Inoltre sono stati esaminati linfonodi mediastinici provenienti da 16 bovini allevati in provincia di Imperia, inviati alla macellazione coatta in quanto positivi alla intradermoreazione per TB.

I campioni sono stati omogeneizzati con mortaio, sottoposti a procedura di decontaminazione con NaOH e centrifugati. Il surnatante è stato utilizzato sia per l'esecuzione dell'esame microscopico con la colorazione di Ziehl-Nielsen sia per l'esame colturale. Per l'esecuzione dell'esame microscopico un'ansata da 10 µl è stata stemperata su un vetrino portaoggetti, fissata a fiamma, colorata con la procedura standard per la colorazione di Ziehl-Nielsen. I vetrini sono stati successivamente esaminati osservando 100 campi per vetrino o fino al rinvenimento di microrganismi alcool-acido resistenti, con il microscopio ottico a 1000X.

Per l'esame colturale si è provveduto alla semina di 2 tubi per ognuno dei terreni di coltura utilizzati. In particolare, un'ansata di surnatante (10 µl) è stata seminata su 7H10 modificato mediante la sostituzione del glicerolo con piruvato di sodio (12g/l), su Lowenstein-Jensen e su Stonebrink. I tubi sono stati incubati a 37°C e controllati settimanalmente per 6 mesi, trascorsi i quali i campioni in cui non si era evidenziata alcuna crescita sono stati considerati

negativi. Le colonie cresciute nel frattempo sono state sottoposte a conferme tramite colorazione di Ziehl-Nielsen e quindi identificate seguendo le procedure standard.

#### 2.5. Spoligotyping

Lo Spoligotyping (da spacer oligotyping) è una metodica di rilevamento e tipizzazione dei micobatteri del *M.tuberculosis* complex, basata sul polimorfismo del DNA presente in particolare tratto del cromosoma detto "Direct Repeat" (DR). Nel *M.bovis* BCG la regione DR consiste di sequenze ripetute di 36 paia di basi, intervallate da tratti di DNA non ripetitivo di 35-41 paia di basi. Il numero di copie della sequenza DR nel *M.bovis* BCG è di 49, ma esistono variazioni tra i vari strains appartenenti al *M.tuberculosis* complex.

Comparando le regioni DR di strains diversi, si osserva l'inserzione o la mancanza di sequenze ripetitive e non, e questo permette di caratterizzare lo strain in questione. Questo avviene attraverso l'amplificazione della regione con PCR, e la successiva ibridizzazione dei prodotti ottenuti con oligonucleotidi precedentemente legati in linee parallele su una membrana attivata di Biodyne C (reversed line blot). La perossidasi presente nella streptavidina catalizza una reazione con emissione di luce che viene evidenziata tramite autoradiografia della membrana.

Per le procedure operative della metodica si rimanda al protocollo di cui in Buschotzen *et al.* (1996).

Lo spoligotyping è stato condotto su 15 isolati di *M.bovis*, di cui 9 relativi a campioni prelevati nel 1995 e 6 relativi a campioni prelevati nel 1993 e nel 1994. E' stato inoltre condotto su 15 isolati di *M.bovis*, ottenuti da bovini allevati in provincia di Imperia. I patterns di ibridizzazione ottenuti sono stati comparati con il Gel Compare Software (Ver. 3.1).

### 3. Risultati

Per motivi di ordine contingente non tutti i campioni sono stati sottoposti alla totalità delle indagini. In Tabella 1 è riportato il numero di campioni analizzati con ciascuna delle metodiche adottate.

#### 3.1. Anatomopatologia, Istopatologia, Sonde genetiche

Nel 1995, lesioni macroscopiche sono state osservate in 300 su 2488 capi controllati nelle province di Savona e Imperia. La prevalenza era del 12% (137 positivi su 1141 capi esaminati) in provincia di Imperia e del 12.1% (163

positivi su 1347 capi esaminati) in provincia di Savona. Per 261 dei 300 campioni è stata effettuata una classificazione macroscopica delle lesioni, risultate essere come da Tabella 2.

Per quanto riguarda la correlazione esistente tra prevalenza di lesioni, sesso ed età dei soggetti, i dati mostrano una correlazione significativa ( $p < 0.0005$ ,  $\chi^2 = 121.698$ , g.l.=1) tra età dell'animale e presenza di lesioni, mentre non esiste alcuna differenza tra le prevalenze osservate nei maschi e nelle femmine (Tabella 3).

L'analisi con il test MTD è stata effettuata su 260 campioni, di cui 113 (43.5%) sono risultati positivi al *M.tuberculosis* complex. Per contro, solamente 11 dei 115 campioni analizzati con l'Accuprobe test sono risultati positivi per il *M.avium* complex (4.2%). Va ricordato come l'assenza di una fase di amplificazione renda questo test molto meno sensibile dell'MTD soprattutto su tessuto. A causa del numero limitato di positività, non è stata effettuata alcuna correlazione tra risultati dell'Accuprobe test e l'aspetto macroscopico ed istologico delle lesioni. Sono risultati positivi all'MTD il 59.6% dei campioni provenienti da Imperia ed il 25.8% di quelli provenienti da Savona. Questo porta ad una prevalenza nelle due aree di studio rispettivamente del 7.2% e 3.1%. Dette prevalenze appaiono significativamente diverse ( $\chi^2 = 21.59$   $p < 0.00005$ ).

In Tabella 4 viene riportato il confronto tra aspetto macroscopico della lesione e positività al test MTD mentre il confronto tra aspetto istopatologico delle lesioni e positività al test MTD è

riportato in Tabella 5.

Per quanto riguarda la relazione esistente tra tipo di lesione istologica e positività al test MTD è stata rilevata una correlazione positiva tra positività al test MTD e progressione della lesione da nodulo tubercolare sclero-calcifico, a tubercolo necrotico-calcificato, a tubercolo fibro-necrotico, a tubercolo necrotico ( $\chi^2 = 9.550$ ,  $p < 0.05$ , g.l = 3, OD = 1.00-0.39-0.30-0.14).

### 3.2. Isolamento

Dai 125 campioni di cinghiale sottoposti a coltura sono stati isolati 16 ceppi di *M.bovis*, 6 ceppi di *M.avium*, un ceppo di *M.tuberculosis* e 4 ceppi a rapida crescita, mentre in 15 dei 16 campioni bovini è stato isolato *M.bovis*.

Il tempo medio di isolamento di *M.bovis* è stato significativamente più alto nel cinghiale (80gg; con un range di 28-124 gg) rispetto al bovino (27 gg; con un range di 6-45 gg) ( $t = 5.732$ , g.l.= 29,  $p < 0.0001$ ).

Per quanto riguarda la correlazione tra esami colturali e test MTD, in 8 casi entrambe le metodiche hanno dato esito positivo, in due casi l'isolamento è stato positivo e il test MTD negativo, in 34 casi l'isolamento è stato negativo e il test MTD positivo, ed in 40 casi entrambe le metodiche hanno dato esito negativo.

### 3.3. Spoligotyping

Dallo spoligotyping dei 15 campioni provenienti da cinghiale è emersa l'esistenza di 5 spoligotipi diversi, mentre dai 15 campioni provenienti da bovini sono stati identificati 4 spo-

Tab. 1 - Campioni analizzati con le varie metodiche

Capi esaminati	Capi con lesioni	Capi con descrizione macroscopica	Capi con descrizione istologica	Capi esaminati al test MTD	Capi esaminati al test Accuprobe
2488	300	261	179	260	115

Tab. 2 - Aspetto macroscopico delle lesioni linfonodali in 261 cinghiali abbattuti nelle province di Imperia e Savona. Le percentuali vengono riportate in parentesi.

	Purulento	Simil sarcomatoso	Caseoso necrotico	Calcificato	Totale
Nodulo singolo	0	1 (0.4%)	21 (8.0%)	29 (11.1%)	51 (19.5%)
Noduli multipli	4 (1.5%)	4 (1.5%)	30 (11.5%)	172 (65.9%)	210 (80.5%)
Totale	300 (1.5%)	261 (1.9%)	179 (19.5%)	260 (77.0%)	115

**Tab. 3** - Frequenza delle lesioni tubercolari nelle diverse fasce di età.

Maschi			Classi di età	Femmine		
Esaminati	Positivi	Prevalenza		Esaminati	Positivi	Prevalenza
192	7	3.64%	< 1 anno	207	10	4.83%
174	31	17.81%	1-2 anni	227	42	18.50%
293	92	31.39%	>2 anni	294	101	34.35%
659	130	19.72%	Totale	728	153	21.01%

**Tab. 4** - Confronto tra positività al test MTD e aspetto macroscopico delle lesioni (positivi /esaminati e percentuale) in 228 cinghiali delle province di Imperia e Savona.

	Nodulo singolo	Noduli multipli
Purulento	/	(25%)
Simil sarcomatoso	/	2/4 (50%)
Caseoso necrotico	2/16 (12.5%)	7/17 (41.2%)
Calcificato	5/15 (33.3%)	79/172 (45.9%)
Totale	7/31 (22.6%)	89/197 (45.2%)

**Tab. 5** - Confronto tra positività al test MTD e aspetto istopatologico delle lesioni in 179 cinghiali delle province di Imperia e Savona.

	T	TF	TC	TCF	Totale
MTD +	20	5	35	26	86
MTD -	8	14	36	35	93
% casi +	71.4%	26.3%	49.3%	42.6%	179

T= nodulo tubercolare sclero-caseoso; TF= nodulo tubercolare sclero-caseoso con fibrosi;

TC= nodulo tubercolare sclero-caseo-calcifico; TCF= nodulo tubercolare sclero-caseo-calcifico con fibrosi.

ligotipi. Due terzi dei casi erano imputabili allo stesso spoligotipo presente sia nei bovini che nei cinghiali (11 e 9 casi rispettivamente), mentre per i restanti spoligotipi questi erano presenti o nei domestici o nel cinghiale. La variabilità di spoligotipi osservata lascia ipotizzare una ripetuta immissione di ceppi diversi di *M.bovis* nel tempo. Resta da chiarire se questo sia imputabile ad una circolazione di ceppi diversi di micobatteri all'interno della popolazione di cinghiali, a spostamenti di cinghiali infettatisi in aree esterne all'area di studio o ancora all'immissione di micobatteri da parte di bovini infetti con ceppi diversi.

#### 4. Discussione

I risultati indicano, per l'area di studio, una prevalenza dell'infezione tubercolare del 5.2% in base al test MTD e del 12.1% in base al

reperto di lesioni macroscopiche. Analoghe discrepanze sono riportate in letteratura e, nel complesso, la conferma di infezione tubercolare sembra avvenire in meno (Letts, 1964; Schulz et al., 1992) o anche molto meno della metà dei cinghiali portatori di lesioni linfonodali (Corner et al., 1981, Essey et al., 1983; McInerney et al., 1995).

Anche nei suini domestici, la presenza di micobatteri appartenenti al *M.tuberculosis* complex è confermata solo in parte dei casi che presentano lesioni macroscopiche (Luke, 1958; Vasenius, 1965; Lesslie et al., 1968; Kleeberg & Nel, 1969; Thoen, 1975; Dey, 1986).

Nonostante il riscontro di focolai dovuti a *M.bovis* (Fichandler & Osborne., 1966) e a *M.africanum* (Alfredsen & Saxegaard, 1992) la maggior parte delle segnalazioni nel suino riguardano infezioni dovute a micobatteri

ambientali o appartenenti al MAIS complex (Lesslie *et al.*, 1968; Jorgensen *et al.*, 1972a, Jorgensen *et al.*, 1972b; Mitchell *et al.*, 1975; Thoen *et al.*, 1975; Thoen *et al.*, 1976; Songer *et al.*, 1980). Nei suini sarebbe quindi più corretto utilizzare il termine micobatteriosi in sostituzione di tubercolosi (Dey & Parham, 1993). Nel caso del presente contributo, la bassa sensibilità su tessuto del test Accuprobe ed il limitato numero di isolamenti non permettono né di valutare il significato di altri micobatteri, né di fare un confronto tra la tipologia delle lesioni causate da *M.bovis* e quelle dovute a micobatteri appartenenti al MAIS complex. Tuttavia, i dati bibliografici disponibili per il suino concordano nel giudicare macroscopicamente indifferenziabili le lesioni causate da *M. bovis* da quelle dovute ad altri micobatteri (Kleeberg & Nel, 1969; Ray, 1972; Dey, 1986).

Relativamente ad altri focolai noti di tubercolosi nel cinghiale, si riportano prevalenze che vanno dall'84% di lesioni e 31.1% di infezione riscontrate in Australia negli anni '60 (Letts, 1964) all'1.4% e 0.8% rispettivamente rilevati in Germania (Schulz *et al.*, 1992).

I nostri dati sono relativamente simili a quelli segnalati nelle Hawaii (Essey *et al.*, 1983) ed in Australia (Corner *et al.*, 1981). In particolare, i valori segnalati in quest'ultimo Paese, lesioni nel 23% dei capi e prevalenza dell'infezione del 4.9% (Corner *et al.*, 1981), appaiono assai prossimi a quanto rilevato in questa ricerca.

La frequenza delle lesioni macroscopiche è positivamente correlata all'età dei soggetti esaminati; al contrario, il numero dei soggetti positivi all'infezione tende a diminuire nella fascia di età dei soggetti maturi, tanto che 15 dei 16 ceppi di *M.bovis* isolati da cinghiali sono stati ottenuti da soggetti di età inferiore a 12 mesi. Questi risultati concordano con quelli ottenuti in precedenza da altri ricercatori, che hanno osservato come con l'aumento dell'età dei soggetti esaminati (lesioni sono già individuabili in soggetti di 4 mesi) aumentasse anche la prevalenza di animali con lesioni macroscopiche e diminuisse, allo stesso tempo, la frequenza di isolamenti colturali (Corner *et al.*, 1981). Il fatto che con il crescere dell'età aumentino le probabilità di contrarre l'infezione, sembra indicare che i cinghiali dell'area di studio sono continuamente esposti ai micobatteri. Studi recenti hanno mostrato la scarsa sopravvivenza dei micobatteri nell'ambiente (Jackson *et al.*, 1995) ma, in quelle circostanze, i micobatteri erano stati depositati sulla super-

ficie del terreno. Ben maggiore – fino a 2 anni – è la sopravvivenza dei micobatteri che, per varie cause, si trovano nel terreno a maggior profondità (Wray, 1975). Considerando che buona parte dell'alimentazione del cinghiale è data da componenti che vivono al di sotto del livello del suolo (Briedermann, 1986), si può immaginare come questa specie possa, durante il grufolamento, venire facilmente a contatto con micobatteri "sepolti" nel terreno.

Quanto alle modalità di circolazione di *M.bovis*, sembra poco sostenibile l'ipotesi di una sua trasmissione pseudo-verticale nell'ambito della popolazione di cinghiali. Se questa via fosse importante, dovremmo infatti attenderci una maggior frequenza di lesioni nei giovani al di sotto di 12 mesi. Anche l'eventualità di una trasmissione orizzontale appare poco probabile. Va infatti considerato che le femmine vivono in gruppi matriarcali fin dalla nascita, mentre i maschi vengono scacciati dal gruppo materno ad un anno e successivamente conducono vita solitaria (Briedermann, 1986). Supponendo una trasmissione orizzontale, si dovrebbe osservare una diversa prevalenza delle lesioni in maschi e femmine adulte, mentre invece le prevalenze osservate non differiscono significativamente fra i due sessi.

La drastica diminuzione degli isolamenti di micobatteri con il progredire dell'età dei cinghiali, fa supporre la capacità della specie di contrastare l'infezione e neutralizzare i micobatteri nelle lesioni (Corner *et al.*, 1981). A sostegno di questa ipotesi vi sarebbero i dati sperimentali forniti da studi condotti sul suino domestico che hanno mostrato come, in caso di infezione da *M.bovis* e da *M.avium*, questo ospite sia in grado di autosterilizzarsi (Luke, 1958; Ray *et al.*, 1972; Jorgensen, 1978; Dey, 1986). Anche la diminuzione di positività al test MTD nei tubercoli calcificati e con fibrosi (Tab.5) potrebbe ricondursi a processi di autosterilizzazione, che sono appunto caratterizzati dalla progressiva fibrosi delle lesioni (Ray *et al.*, 1972). L'assoluta rarità di quadri generalizzati (Mignone, com. pers.) conferma ulteriormente la resistenza di questa specie verso l'infezione da micobatteri (Corner *et al.*, 1981; McInerney *et al.*, 1995).

Alla differente prevalenza dell'infezione nei cinghiali delle due province oggetto di monitoraggio, corrisponde una diversa presenza dell'infezione nei bovini. Infatti, se l'eradicazione è ormai prossima in provincia di Savona (Dini, com. pers.), i dati relativi alla provincia di Imperia lasciano intendere una proporzione

tuttora rilevante di capi infetti (Famà, 1997). Lo stretto legame fra infezione tubercolare nei bovini e nei cinghiali risulta dall'analisi storica di dati pubblicati da ricercatori australiani. Emerge come, dagli anni '60 ad oggi, al controllo della tubercolosi nei bovini e nei bufali abbia fatto riscontro una diminuzione netta della patologia nei suidi selvatici. In questi suidi, si è infatti passati da una prevalenza iniziale del 31.1% (Letts, 1964) al 4.9% degli anni '70 (Corner et al., 1981) e allo 0.2% attuale (McInerney et al., 1995). Sull'importanza di fonti esterne per il mantenimento dell'infezione nei cinghiali concordano anche altri autori che si sono occupati del problema (Essey et al., 1983; Smith, 1997). Nel caso della nostra area di studio, l'esistenza di fonti di infezioni esterne alla popolazione di cinghiali sembra suggerita (anche se non dimostrata), dalla variabilità degli spoligotipi di *M. bovis* incontrati. Per quanto riguarda l'infezione da *M. tuberculosis* l'unica spiegazione plausibile parrebbe essere il contatto con materiale umano infetto, con il tramite eventuale di reflui fognatizi non trattati. Nel complesso, e in analogia con le conclusioni altri autori (Corner et al., 1981; McInerney et al., 1995; Smith, 1997), appare poco probabile l'ipotesi che il cinghiale rappresenti un reservoir silvestre dell'infezione tubercolare nell'area di studio. Maggiore è l'interesse che questo ospite merita come indicatore sensibile del livello di contaminazione ambientale da parte di micobatteri.

## 5. Ringraziamenti

Questa ricerca è stata eseguita con fondi della Regione Liguria, Assessorato alla Sanità e con fondi Interreg II.

## Bibliografia

ABE C., HIRANO K., WADA M., KAZUMI Y., TAKAHASHI M., FUKASAWA Y., YOSHIMURA T., MIYAGI C. & GOTO S. (1993) - Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical specimens by PCR and Gen-Probe Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test *Journal of Clinical Microbiology*, 31: 3270-3274

ALFREDSSEN S. & SAXEGAARD F. (1992) - An outbreak of tuberculosis in pigs and cattle caused by *Mycobacterium africanum* *The Veterinary Record*, 131: 51-53.

ALLISON, M.M. (1967) - *Annual report*, Calif. District U.S. Bur. Sport Fish. Wildl. Div. 24 pp.

BIOLATTI B., BOLLO E., MIGNONE W., CARAMELLI M. & SCHRÖDER C. (1992) - Tuberculosis in wild boars (*Sus scrofa*) in Liguria (Italy) *Erkrankungen der Zootiere. Verhandlungsbericht des 34 Internationalen Symposium über die Erkrankungen der Zoo- und Wildtiere, Santander-Spain 1992*, 55-59

BODMER T., GURTNER A., SCHOPFER K. & MATTER L. (1994) - Screening of respiratory tract specimens for the presence of *Mycobacterium tuberculosis* by using the Gen-Probe Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test. *Journal of Clinical Microbiology*, 32: 1483-1487

BOLLO E., GUARDA F., CAPUCCHIO M.T. & GALIETTI F. (1998) - Direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex and *M. avium* complex in tissue specimens from cattle through identification of specific rRNA sequences. *Journal of Veterinary Medicine. B*, 45: 395-400.

BRIEDERMANN L. (1986) - *Schwarzwild*. Neumann-Neudamm ed. Berlin. 539 pp

BUNSCHOZEN A., MOLHUIZEN H., SCHOOLS L., VAN SOOLINGEN D. & VAN EMBDEN J. (1996) - "Spoligotyping", a method to detect and type. *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria *Research Laboratory for infectious diseases National Institute of Public Health and the Environment The Netherlands*, pp.16

COLLINS D.M., GABRIC D.M. & DE LISLE G.W. (1988) - Typing of *Mycobacterium bovis* isolates from cattle and other animals in the same locality. *New Zealand Veterinary Journal*, 36: 45-46

CORNER L.A., BARRETT R.H., LEPPER A.W.D., LEWIS V. & PEARSON C.W. (1981) - A survey of mycobacteriosis of feral pigs in the Northern Territory. *Australian Veterinary Journal*, 57: 537-542

DEY B.P. (1986) - Mycobacterioses in swine and their significance to public health. *United States Department of Agriculture Bibliographies and Literature of Agriculture* 49, pp.92.

DEY B. P. & PARHAM G. L. (1993) - Incidence and economics of tuberculosis in swine slaughtered from 1976 to 1988. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 203: 516-519.

DRAKE T.A., HINDER J.A., BERLIN O.G.W. & BRUCKNER D.A. (1987) - Rapid identification of *Mycobacterium avium* complex in culture using DNA probes *Journal of Clinical Microbiology* 25: 1442-1445.

EHLERS S., PIRMANN M., ZAKI W. & HAHN H. (1993) - Evaluation of a commercial rRNA target amplification assay for detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in respiratory specimens. *Diagnostic Microbiological Infectious Diseases*, 21: 827-829

EKDAHL M.O., SMITH B.L. & MONEY D.F.L. (1970) - Tuberculosis in some wild and feral animals in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, 18: 44-45.

ESSEY M.A., STALLKNECHT D.E., HIMES E.M. & HARRIS S.K. (1983) - Follow-up survey of feral swine for *Mycobacterium bovis* infection on the Hawaiian island of Molokai. *Proceedings of the U.S. Animal Health Association Meeting*, 87: 589-595

FAMÀ N. (1997) - A rischio di epidemia. Casi di bestiame morti per tubercolosi. Formulata una nuova ipotesi di reato. *Il Secolo XIX* 16 Aprile, 13.

FERROGLIO E.M. & ROSSI L. (1996) - Brevi note informative sulla tubercolosi nel cinghiale ed in altri mammiferi selvatici. *Medicina Veterinaria Preventiva*, 12: 8-9..

FICHANDLER P.D. & OSBORNE A.D. (1966) - Bovine tuber-

- culosis in swine. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 148: 167-169.
- GONZALEZ R. & HANNA B.A. (1987) - Evaluation of Gen-Probe DNA hybridization systems for the identification of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium*-intracellulare *Diagnostic Microbiological Infectious Diseases*, 8: 69-77
- GRIFFIN J.M. & BUCHAN G.S. (1994) - Aetiology, pathogenesis and diagnosis of *Mycobacterium bovis* in deer *Veterinary Microbiology*, 40: 193-205
- IVETIC V. & SUDARIC F. (1987) - Pearly tuberculosis ("perlsucht") in wild boar. *Veterinaria Yugoslavia*, 36: 121-125 (in Serb.).
- ITOH R., KAGABU Y. & ITOH F. (1992) - *Mycobacterium bovis* Infection in a Herd of Japanese Shika Deer (*Cervus nippon*). *Journal of Veterinary Medical Science*, 54: 803-804.
- JACKSON R., DE LISLE G.W. & MORRIS R.S. (1995) - A study of the environmental survival of *Mycobacterium bovis* on a farm in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, 43: 346-352.
- JONAS V., ALDEN M.J., CURRY J.L., KAMISANGO K., KNOTT C.A., LANKFORD R., WOLFE J.M. & MOORE D.F. (1993) - Detection and identification of *Mycobacterium tuberculosis* directly from sputum sediments by amplification of rRNA. *Journal of Clinical Microbiology*, 31: 2410-2416.
- JØRGENSEN J.B., HAARBO K., DAM A. & ENGBÆK H.C. (1972A) - An enzootic of pulmonary tuberculosis in pigs caused by *M. avium*. 1. Epidemiological and pathological studies. *Acta veterinaria Scandinavica*, 13: 56-67.
- JØRGENSEN J.B., ENGBÆK H.C. & DAM A. (1972B) - An enzootic of pulmonary tuberculosis in pigs caused by *M. avium*. 2. Bacteriological studies. *Acta veterinaria Scandinavica*, 13: 68-86.
- JØRGENSEN J.B. (1978) - Experimental infection with *Mycobacterium avium*, serotype 2, in pigs. IV. Contact infection from orally inoculated pigs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 19: 58-72.
- KALENSKY P. (1992) - Isolation of *Mycobacteria* from wild boar *Veterinarstvi*, 42: 346-347 (in Slov.).
- KIEHN T.E. & EDWARDS F.F. (1987) - Rapid identification using a specific DNA probe of *Mycobacterium avium* complex from patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Journal of Clinical Microbiology*, 25: 1551-1552.
- KINDINGER H. (1934) - Tuberculose beim wild in freier wildbahn. *Vet. Med. Dissertation Giessen*, 50 pp.
- KLEEBERG H.H. & NEL E.E. (1969) - Porcine mycobacterial lymphadenitis. *Journal of the South African Veterinary Medical Association*, 40: 233-250.
- KURTZE H. (1961) - Reinfektion tuberkulosefreier Rinderbestände durch tuberkulöses. *Wild Deutsche Tierärztliche wochenschrift*, 68: 442-443.
- LESSLIE I.W., BIRN K.J., STUART P., O'NEILL P.A.F. & SMITH J. (1968) - Tuberculosis in the pig and the tuberculin test. *The Veterinary Record*, 83: 647-651.
- LETTS G.A. (1964) - Feral animals in the Northern Territory. *Australian Veterinary Journal*, 40: 84-88.
- LO ROCCO M.T., WANGER A., OCERA H. & MACIAS E. (1993) - Evaluation of a commercial rRNA amplification assay for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* in processed sputum. *Diagnostic Microbiological Infectious Diseases*, 21: 726-731.
- LUGTON I.W., WOBESER G., MORRIS R.S. & CALEY P. (1997) - Epidemiology of *Mycobacterium bovis* infection in feral ferrets (*Mustela furo*) in New Zealand: I. Pathology and diagnosis. *New Zealand Veterinary Journal*, 45: 140-150
- LUKE D. (1958) - Tuberculosis in the horse, pig, sheep and goat. *The Veterinary Record*, 70: 529-536
- MCINERNEY J., SMALL K.J. & CALEY P. (1995) - Prevalence of *Mycobacterium bovis* infection in feral pigs in the Northern Territory *Australian Veterinary Journal*, 72: 448-451
- MIGNONE W., ERCOLINI C., FISICHELLA S. & DONDO A. (1991) - Osservazioni preliminari su alcuni episodi di tubercolosi nel cinghiale (*Sus scrofa*). *Selezione Veterinaria*, 32: 843-849.
- MIGNONE W., DINI V., BOLLO E., GANDUGLIA S., FERRARO G., BECCHI R. & POGGI M. (1996) - Monitoraggio della tubercolosi nei cinghiali a vita libera: esperienze in provincia di Imperia e di Savona. *Atti del Convegno nazionale: ecopatologia della fauna selvatica (Bologna 15-17 dicembre 1994)*, *Supplemento alle Ricerche di Biologia della Selvaggina*, XXIV, 619-629.
- MILLER N., HERNANDEZ S. & CLEARY T. (1994) - Evaluation of Gen-Probe Amplified *Mycobacterium Tuberculosis* Direct test and PCR for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 32: 393-397.
- MITCHELL M.D., HUFF I.H., THOEN C.O., HIMES E.M. & HOWDER J.W. (1975) - Swine tuberculosis in South Dakota. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 167: 152-153
- MUSIAL C.E., TICE L.S., STOCKMAN L. & ROBERTS D. (1988) - Identification of mycobacteria from culture using Gen-Probe rapid diagnostic system for *Mycobacterium avium* complex and *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Journal of Clinical Microbiology*, 26: 2120-2123
- NOLAN A. & WILESMITH J.W. (1994) - Tuberculosis in badgers (*Meles meles*). *Veterinary Microbiology*, 40: 179-191
- PFYFFER G., KISSLING P., WIRTH R. & WEBER R. (1994) - Direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in respiratory specimens by a target-amplified test system. *Journal of Clinical Microbiology*, 32: 918-923.
- RAY J.A., MALLMANN V.H., MALLMANN W.L. & MORRILL C.C. (1972) - Pathologic and bacteriologic features and hypersensitivity of pigs given *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium avium*, or group III *Mycobacteria* *American Journal of Veterinary Research*, 33: 1333-1345.
- SALTO H., TOMIOKA H., SATO K., TASAKA H., TSUKAMURRA M., KUZE F. & ASANO K. (1989) - Identification and partial characterization of *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare* by using DNA probes. *Journal of Clinical Microbiology*, 27: 994-997.
- SCHULTZ G., DEUTER H. & DEDEK J. (1992) - Zur

- Vorkommen von *Mycobacterium bovis* infektionen beim freilebenden Schwarzwild *Erkrankungen der Zootiere. Verhandlungsbericht des 34 Internationalen Symposium über die Erkrankungen der Zoo- und Wildtiere, Santander-Spain 1992, 51-53.*
- SONGER J.G., BICKNELL E.J. & THOEN C.O. (1980) - Epidemiological investigation of swine tuberculosis in Arizona. *Canadian Journal of Comparative Medicine, 44: 115-120.*
- STARODINOVA A.K. (1974) - Lokalisation und Erscheinungsformen der tuberculose bei wildschweinen *cit. in Briedermann L. Schwarzwild Neumann-Neudamm ed. pp539.*
- THOEN C.O., JARNAGIN J.L. & RICHARDS W.D. (1975) - Isolation and identification of Mycobacteria from porcine tissues: a three-year summary. *American Journal of Veterinary Research, 36: 1383-1386.*
- THOEN C.O., HIMES E.M., WEAVER D.E. & SPANGLER G.W. (1976) - Tuberculosis in brood sows and pigs slaughtered in Iowa. *American Journal of Veterinary Research, 37: 775-778.*
- VASENIUS H. (1965) - Tuberculosis-like lesions in slaughter swine in Finland. *Nordisk veterinærmedicin, 17: 17-21.*
- WRAY C. (1975) - Survival and spread of pathogenic bacteria of veterinary importance within the environment. *Commonwealth Bureau of Animal Health, 45: 543-550.*



# CONTROLLO SANITARIO DI CONIGLI SELVATICI NEL PARCO DEL SERIO (PROVINCIA DI BERGAMO)

Massone A., Capucci L., Macchi C., Giovannini S., Lavazza A.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna - Via Bianchi, 9 - 25124 Brescia

**Riassunto** - Nel periodo luglio-settembre 1997, nell'ambito di un piano di abbattimento controllato del coniglio selvatico all'interno del Parco del Serio (BG) sono stati sacrificati circa 600 soggetti. Un totale di 105 carcasse, di cui si è rilevato peso e sesso, sono state sottoposte ad esame necroscopico per la verifica di lesioni riferibili a mixomatosi, malattia virale emorragica (MEV) e pseudotubercolosi, e per determinare la presenza di parassiti. Da 48 soggetti è stato altresì eseguito un esame sierologico per la presenza di anticorpi anti-mixomatosi, anti-MEV e anti-*T. gondii*. Negli 11 casi in cui erano state evidenziate lesioni tipiche di mixomatosi la diagnosi confermativa è stata eseguita mediante esame ultramicroscopico. Su tutti i 105 conigli esaminati è stata identificata la presenza della pulce *Spyllopsillus cuniculi*. In nessun soggetto erano presenti lesioni riferibili a MEV a livello epatico né a pseudotubercolosi a carico dell'appendice ciecale. In tutti i conigli è stata accertata la presenza di *Passalurus ambiguus* a livello di cieco e colon; in 89,5% dei conigli era evidenziato, a livello del fondo dello stomaco il nematode ematofago *Graphidium strigosum*, nel 85,4% cestodi nell'intestino. Lesioni da cisticerchi erano visibili nel 36,9% dei conigli, quelle indotte dal coccidio *E. stiedae* nel 13,6%. L'esame sierologico ha rivelato una positività per anticorpi anti-*T. gondii* a titoli significativi in solo 4 conigli (8,7%); al contrario, solo il 10,4% e il 4,5% dei conigli esaminati sono risultati negativi rispettivamente per anticorpi anti-MEV e anti-mixomatosi.

**Abstract - Diagnostic investigation on a wild rabbit population in the Serio Park (Bergamo Province, Northern Italy).** During the July - September 1997 period, six hundred wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) were shot in the Parco del Serio area (Bergamo province, Northern Italy). This action was decided in order to reduce the number of rabbits, considered too high, and to limit the diffusion of mixomatosis, diagnosed in few animals captured inside the park. Necropsies were performed on one hundred and five carcasses and lesions referable to mixomatosis, rabbit haemorrhagic disease (RHD) and pseudotubercolosis were recorded. Prevalence for different parasites was also determined. Seroprevalence for anti-*Toxoplasma gondii*, anti-RHD virus and anti-mixomatosis virus was evaluated on 45 sera. Diagnosis of mixomatosis was achieved for 11 rabbits using negative staining electron microscopy. Lesions referable to RHD and pseudotubercolosis were never found. The flea *Spyllopsillus cuniculi* was found on all rabbits. Among the parasites the following were observed: *Passalurus ambiguus* (100% of rabbits), *Graphidium strigosum* (89.5%), tapeworm (85.4%). Lesions caused by *Cysticercus* sp. and by *E. stiedae* were found, in 36.9% and 13.6% cases respectively. Serological survey gave the following results: 4 rabbits (8.7%) were positive for anti-*T. gondii* antibodies, while only 10.4% and 4.5% of the tested rabbits resulted negative for anti-MEV and anti-mixomatosis antibodies respectively.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 155 - 164

## 1. Introduzione

Nel periodo luglio-settembre 1997, nell'ambito di un piano di abbattimento controllato del coniglio selvatico *Oryctolagus cuniculus* all'interno del Parco del Serio (Provincia di Bergamo), nei comuni di Grassobbio e Cavernago (Fig. 1), sono stati abbattuti circa 600 soggetti (mediante arma da fuoco) da parte delle guardie forestali del Parco.

Tale provvedimento, autorizzato dall'Amministrazione Provinciale, era motivato sia dalla segnalazione di un focolaio di mixomatosi in un gruppo di animali prelevati da tale zona a scopo di ripopolamento, sia dalla presunta eccessiva densità causata da un'incontrollata proliferazione della specie, ritenuta dannosa per le coltivazioni.

La velocità di riproduzione e la notevole proli-

ficità del coniglio, infatti, possono determinare, in ambienti particolarmente ricchi di vegetazione e privi di predatori naturali e/o competitori, notevoli alterazioni dell'equilibrio ecologico esistente (Fusi, 1993).

Poiché tale ordinanza d'abbattimento offriva lo spunto per eseguire un controllo sullo stato di salute della specie, si è concordato con i responsabili del Parco l'invio di una parte delle carcasse, in totale 105, alla Sezione Diagnostica di Bergamo dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna (IZSLER) affinché fossero eseguiti l'indagine necroscopica ed alcuni esami diagnostici.

## 2. Materiali e metodi

Il protocollo d'indagine adottato si è basato sulla ricerca delle principali malattie virali a

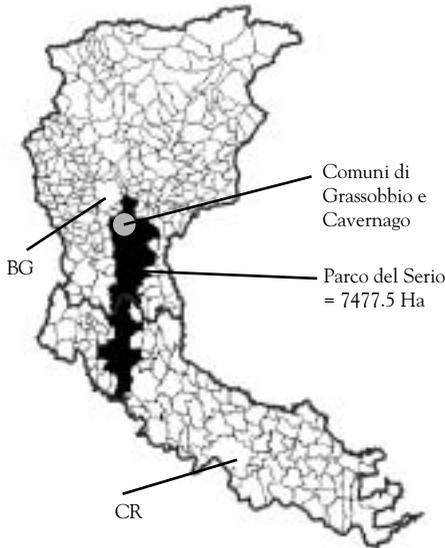


Fig. 1 – Parco del Serio (■) e territorio, comuni di Grassobbio e Cavernago, dove sono stati eseguiti gli abbattimenti (■)

carattere epidemico (Malattia Virale Emorragica e Mixomatosi) e parassitarie del coniglio, e si articolava nelle seguenti fasi:

**2.1. Pesata della carcassa:** allo scopo di desumere, sia pure in modo approssimativo, un'indicazione circa l'età degli animali abbattuti, applicando la tabella di trasformazione fornita dall'INFS (Spagnesi e Toso, 1991).

**2.2. Determinazione del sesso:** effettuata me-

diante identificazione delle gonadi.

**2.3. Esame esterno:** per rilevare, in modo particolare, lesioni riferibili a mixomatosi, essendo in attuazione, nella zona di prelievo faunistico, l'applicazione di misure di Polizia Veterinaria nei riguardi di tale malattia.

**2.4. Esame necroscopico:** allo scopo, in particolare:

- nello stomaco, di verificare la presenza di *Graphidium strigosum*, sia in trasparenza sia, in caso di esito negativo, previa incisione della parete del fondo;
- nel fegato, di accertare la presenza di lesioni riferibili a coccidiosi da *E. stiedae*, a cisticercosi od a MEV;
- nell'intestino, di controllare l'appendice ciecale per escludere la presenza di lesioni riferibili a pseudotubercolosi e, dopo incisione di alcuni tratti, di ricercare cestodi adulti;
- nella cavità toracica, di controllare la presenza di lesioni all'apparato respiratorio e, laddove possibile, prelevare una aliquota di sangue riversatosi in tale sede in conseguenza dell'emorragia dovuta all'abbattimento.

**2.5. Esame sierologico:** il sangue è stato prelevato da 48 conigli, di cui 20 maschi e 28 femmine (Figura 2b), ed è stato subito centrifugato per allontanare la frazione corpuscolata; il siero ottenuto è stato poi congelato a  $-20^{\circ}\text{C}$  in attesa di essere sottoposto all'esame sierologico per anticorpi anti-MEV ed anti-mixomatosi con metodo ELISA (Capucci et al., 1995 e Capucci L., osservazioni personali) e anti-*Toxoplasma gondii* con test di sieroaagglutinazione lenta.

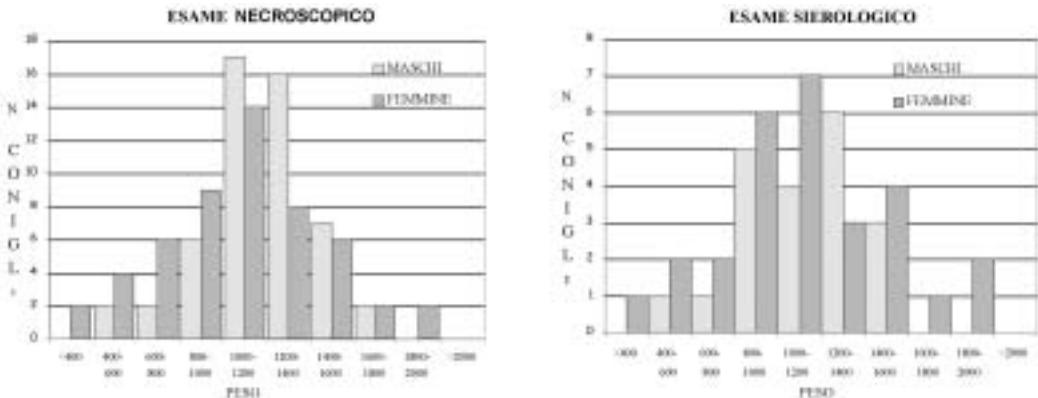


Fig. 2 – Ripartizione dei soggetti sottoposti a necroscopia (n. = 105) ed a esame sierologico (n. = 48) in base al peso ed al sesso

**2.6. Microscopia Elettronica (ME):** è stato eseguito, utilizzando il cosiddetto "metodo della goccia" su 14 campioni prelevati da 11 conigli con lesioni riferibili a mixomatosi e da 3 con lesioni sospette.

**2.7. Analisi statistica:** per la determinazione d'eventuali differenze significative tra animali di diverso peso e sesso in rapporto alla prevalenza di ciascuna malattia o di specifici anticorpi. Allo scopo, si sono considerate tre classi di peso: 1 = fino a 900 grammi (pari a circa 1-3 mesi di età), 2 = tra 900 e 1400 grammi, pari a 4-7 mesi di età, 3 = oltre 1400 grammi, soggetti adulti. Analogamente i risultati degli esami sierologici sono stati raggruppati in classi di titolo secondo lo schema seguente: per MEV, 0 = negativi, 1 =  $\leq 20$ , 2 = 40-320, 3 = 640-1280, 4 =  $\geq 2560$ ; per mixomatosi, 0 = negativi, 1 = 320, 2 = 640, 3 = 1280, 4 =  $>1280$ .

Le analisi sono state effettuate mediante il programma software SPSS for Windows 7.5. Le variabili categoriche sono state confrontate con il test del  $\chi^2$ , mentre per la variabile continua "peso" sono stati utilizzati il test t di Student e l'analisi della varianza.

**2.8. Indagine epidemiologica:** a controprova della presenza delle due malattie virali considerate presenti, nel territorio della provincia di Bergamo, anche in conigli domestici, oltre a realizzare una sommaria indagine epidemiologica negli allevamenti rurali presenti all'interno del Parco, si è voluto verificare la prevalenza delle due malattie attraverso il rilievo dei campioni inviati per la diagnosi virologica al Laboratorio di ME dell'IZSLER durante il periodo Luglio-Dicembre 1997.

### 3. Risultati

In tab. 1 sono riportati tutti i dati relativi ai conigli esaminati ed i risultati degli esami eseguiti, che vengono di seguito analizzati in particolare.

#### 3.1. Determinazione del peso e del sesso

Dei 105 conigli esaminati 52 erano maschi e 53 femmine. In fig. 2a è illustrata la ripartizione dei soggetti esaminati, suddivisi per sesso, in base al peso. In tab. 2 viene riportata, per ciascun sesso la stratificazione per età, così come è stata desunta dal peso: si sono considerati "nati dell'anno" i soggetti fino a 1400 gr di peso, adulti quelli di peso  $>1400$  gr.

#### 3.2. Esame esterno della carcassa

Lesioni riferibili a Mixomatosi (noduli cutanei,

edema palpebrale ecc.) sono state evidenziate in 11 conigli. Da segnalare che la totalità di soggetti con lesioni da mixomavirus è stata conferita unicamente durante la fase iniziale dell'abbattimento, cioè prima della fine di luglio, e che, a giudizio delle guardie incaricate della battuta, tali soggetti presentavano evidenti difficoltà di movimento e capacità di fuga, che li rendevano facilmente catturabili. Su tutti i 105 conigli esaminati è stata identificata la presenza della pulce *Spyllopsillus cuniculi*.

#### 3.3. Esame necroscopico

In nessun soggetto erano presenti lesioni riferibili a MEV a livello epatico né a pseudotubercolosi a carico dell'appendice ciecale. In tutti i conigli è stata accertata la presenza di *Passalurus ambiguus* a livello di cieco e colon. Nella quasi totalità dei conigli esaminati (94 su 105 pari al 89,5%) è stata evidenziata, a livello di fondo dello stomaco, la presenza del nematode ematofago *Graphidium strigosum*. Lesioni da cisticerchi sono state evidenziate in 38 soggetti (su 103 esaminati) pari al 36,9%. Di questi, in 14 casi si trattava di tragitti epatici, in 21 di lesioni viscerali, mentre in due casi erano presenti entrambi i tipi di lesioni. Lesioni riferibili a coccidiosi epatica sono state evidenziate in 14 soggetti su 103 esaminati, pari al 13,6%. La presenza di cestodi nell'intestino di 103 soggetti controllati era pressoché una costante (88 positivi pari al 85,4%).

La figura 3 illustra la percentuale di animali positivi per *Graphidium strigosum* (tot. 94 conigli), cisticercosi (tot. 38 conigli), coccidiosi epatica (tot. 14 conigli) e cestodi (tot. 88 conigli) in ciascuna categoria di peso/età, confrontando i dati per i due sessi. La figura 4 illustra, per ciascun sesso e classe di peso/età la distribuzione delle positività in funzione del numero parassiti presenti contemporaneamente.

#### 3.4. Esame ultramicroscopico

Sono stati esaminati al ME campioni di palpebre e o lesioni cutanee di 14 conigli, che ha permesso di confermare il sospetto diagnostico, tramite evidenziazione diretta di numerose particelle virali morfologicamente riferibili a poxvirus negli 11 casi in cui erano state evidenziate lesioni tipiche di Mixomatosi e di escludere la presenza di particelle virali nei 3 conigli con lesioni sospette.

#### 3.5. Esami sierologici

In tab. 1 sono riportati i risultati dell'esame sierologico. In particolare, solo 4 sieri su 46 esa-

Tab. 1 - Riepilogo dei conigli esaminati e risultati degli esami eseguiti

N.	Peso	Età	Sesso	Mixomatosi les.	ME	Graph. strigos.	Cisticer.	Coccid. epatica	Cestodi	Sierologia			
										n.	RHDV	Mixo	Toxo
1	600	8s	M	S	pos.	S	N	S	S				
2	1200	4m	M	N		S	N	N	N				
3	650	8s	F	S	pos.	S	N	S	S				
4	750	10s	F	S	pos.	S	Vis.	S	N				
5	540	7s	F	S	pos.	N	N	N	N				
6	1006	12s	M	N		N	N	N	N	1	640	>1280	
7	760	10s	F	N		S	Epat.	N	S	2	10	>1280	
8	1470	adulto	F	N		S	N	N	S	3	5120	640	
9	1215	5m	M	N		N	Epat.	N	S	4	640	1280	
10	710	9s	F	N		S	Epat.	N	S				
11	830	10s	M	N		S	N	N	N	5	640	>1280	
12	1800	adulto	F	N		S	Epat.	N	N	6	320	640	512
13	1240	5m	F	S	pos.	S	Vis.	N	S				
14	1220	5m	M	N		S	Epat./Vis.	N	S				
15	1190	4m	F	N	neg.	S	Epat.	N	S	7	1280	>1280	
16	1130	4m	M	N		S	N	N	S				
17	490	6s	F	N		S	Epat.	N	N	8	neg	neg	
18	340	5s	F	S	pos.	S	S	S	S				
19	1030	13s	F	N		S	Epat.	N	S	9	640	>1280	
20	510	7s	F			S							
21	690	9s	M	N		S	Epat.	N	S				
22	1870	adulto	F	N		S	N	N	N	10	>5120	640	
23	560	7s	M	N		S	N	N	S	11	20	1280	
24	1070	13s	F	S	pos.	S	N	N	S	12	160	1280	
25	1500	adulto	F	N		S	N	N	N	13	160	>1280	
26	610	8s	M	S	pos.	S	N	N	S	14	20	>1280	256
27	1630	adulto	M	N		S	N	N	S				
28	900	11s	F	N		S	Epat.	S	N	15	640	>1280	
29	530	7s	F	S	pos.	N	N	N	N	16	10	>1280	
30	1090	13s	F	N		N	Vis.	N	S	17	640	>1280	
31	1480	adulto	M	N		S	Vis.	N	S	18	160	>1280	
32	1180	4m	F	N	n	S	N	N	N	19	640	>1280	
33	960	12s	F	N		S	N	N	S	20	10	>1280	
34	1020	13s	M	N		S	Vis.	N	S				
35	370	5s	F	N		S	N	N	S	21	160	>1280	
36	1120	4m	F	N	n	S	N	N	S				
37	1880	adulto	F	N		S	N	N	S	22	160	320	
38	1180	4m	F	N		S	Vis.	N	S				
39	890	11s	F	S	pos.	S	Vis.	N	S				
40	1390	6-7m	M	S	pos.	S	N	N	S	23	10	640	64
41	1560	adulto	M	N		S	N	N	N				
42	1170	4m	F	N		S	Vis.	N	S				
43	1300	6-7m	M	N		S	Vis.	N	S	24	640	>1280	
44	1170	4m	F	N		S	Vis.	N	S				
45	1150	4m	M	N		S	Vis.	N	S				
46	1100	13s	M	N		S	N	N	S				
47	1200	4m	F	N		S	N	N	S				
48	1350	6-7m	F	N		S	Vis.	N	S				
49	1160	4m	F	N		S	N	N	S	25	640	>1280	
50	1180	4m	M	N		N	N	N	N				
51	1170	4m	M	N		S	N	N	S				
52	1720	adulto	F	N		S	N	N	S				
53	1280	5m	M	N		S	N	N	S				
54	1080	13s	M	N		N	Vis.	N	S				

N.	Peso	Età	Sesso	Mixomatosi		Graph. strigos.	Cisticer.	Coccid. epatica	Cestodi	Sierologia		
				les.	ME					n.	RHDV	Mixo
55	1100	13s	M	N		N	N	N	S			
56	1120	4m	F	N		S	N	N	S			
57	1290	5m	M	N		S	N	N	N			
58	1510	adulto	F	N		N	N	N	S			
59	1080	13s	M	N		S	Vis.	N	S			
60	1460	adulto	M	N		N	N	N	S	26	10	>1280
61	1080	13s	M	N		S	N	N	S			
62	1110	4m	M	N		S	Epat.	S	S	27	10	>1280
63	820	10s	M	N		S	N	S	S	28	10	ne
64	860	11s	F	N		S	Epat.	S	S	29	640	>1280
65	970	12s	F	N		S	Epat.	N	S			
66	940	12s	M	N		S	N	N	S	30	640	>1280
67	1020	13s	F	N		S	N	N	S	31	160	>1280
68	670	9s	F	N		S	N	S	S			
69	1120	4m	M	N		S	Epat.	N	S	32	640	>1280
70	650	8s	F	N		S	N	N	S	33	20	>1280
71	820	10s	F	N		S	N	S	S	34	640	>1280
72	1490	adulto	M	N		S	N	S	S	35	160	>1280
73	1280	5m	F	N		S	Epat./Vis.	N	S	36	640	640
74	1020	13s	M	N		S	N	N	S			
75	960	12s	M	N		S	N	N	S	37	neg	>1280
76	860	11s	M	N		S	N	N	S			
77	880	11s	F	N		S	Epat.	N	S			
78	1380	6-7m	M	N		S	Vis.	N	S			
79	920	12s	F	N		S	N	N	S	38	80	320
80	1310	6-7m	M	N		S	Vis.	S	S			
81	1350	6-7m	F	N		S	Vis.	N	S			
82	1200	4m	M	N		N	N	N	S			
83	1520	adulto	M	N		S	N	N	S			
84	1470	adulto	F	N		S	N	N	S	39	640	640
85	1560	adulto	M	N		S	N	N	S			
86	1400	adulto	M	N		S	N	S	S			
87	1370	6-7m	F	N		S	N	N	S			
88	1480	adulto	F	N		S	Epat.	N	S			
89	1260	5m	M	N		S	N	N	S			
90	1310	6-7m	M	N		S	N	N	S			
91	1300	6-7m	M	N		S	N	N	S	40	80	ne
92	920	12s	M	N		S	N	N	S	41	160	>1280
93	1310	6-7m	F	N		S	Vis.	N	S			
94	1440	adulto	F	N		S	N	N	S	42	neg	>1280
95	1210	5m	M	N		S	N	N	S			
96	1310	6-7m	F	N		S	N	N	S	43	320	640
97	1270	5m	M	N		S	N	N	S	44	neg	neg
98	880	11s	F	N		S	N	N	S	45	640	640
99	1680	adulto	M	N		S	N	N	S			
100	1100	13s	M	N		S	N	N	S	46	neg	>1280
101	1520	adulto	M	N		S	N	N	S			
102	1280	5m	M	N		S	Vis.	N	S	47	320	ne
103	1100	13s	F	N		S	N	N	S			
104	1220	5m	M	N		S	Vis.	N	S			
105	1320	6-7m	F	N		S	Vis.	N	S	48	160	ne

Legenda: M = maschio; F = femmina; N = assenza; S = presenza; pos. = positivo; neg. = negativo; Vis. = cisticercosi viscerale; Epat. = tragitti epatici

**Tab. 2** - Ripartizione dei soggetti esaminati in funzione del sesso e della classe di peso/età

Peso	Età	M	F
<900 gr	1-3 m	7 (6,6%)	18 (17,1%)
900-1400 gr	4-8m	35 (33,3%)	25 (23,8%)
>1400 gr	adulti	10 (9,5%)	10 (9,5%)
Totale		52	53

minati, pari all' 8,7% sono risultati positivi per anticorpi anti-*T.gondii* a titoli significativi; essi provenivano da 1 soggetto di 8 settimane di età, da 2 di 6-7 mesi e da 1 adulto. Al contrario, solo 5 sieri su 48 esaminati, pari al 10,4%, e 2 su 44, pari al 4,5%, sono risultati negativi rispettivamente per anticorpi anti-MEV e anti-mixomatosi.

In fig. 5 e 6 sono riportate le positività, rispettivamente per anticorpi anti-MEV e anti-mixomatosi, distribuite in funzione del sesso, della classe di titolo e del peso/età dei conigli. Da sottolineare che in 4 conigli, in cui erano presenti lesioni riferibili a mixomatosi, l'esame sierologico ha permesso di rilevare titoli compresi fra 1:640 e 1:1280.

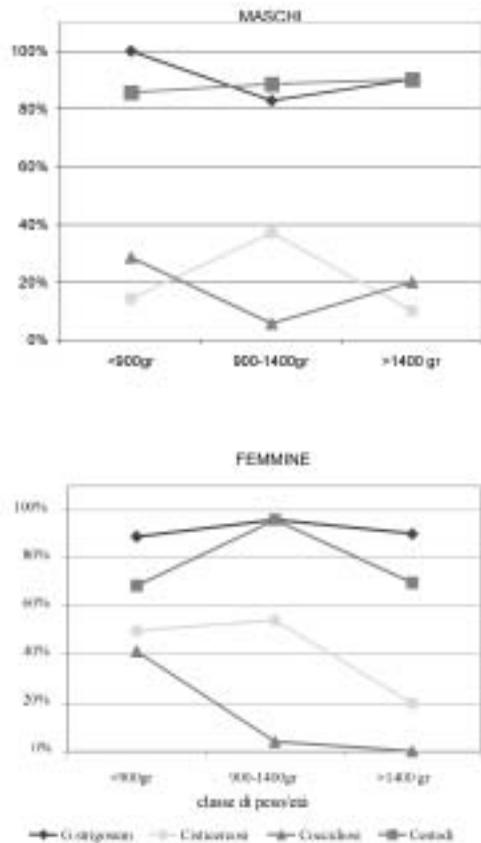
**3.6. Analisi statistiche**

Il peso medio dei conigli esaminati era di 1176,36 grammi ( $\pm 259,74$ ) per i maschi e di 1085,28 grammi ( $\pm 372,24$ ) per le femmine. Nell'ambito di ogni singola patologia sono stati effettuati confronti per evidenziare eventuali differenze significative in rapporto al sesso e all'età dei soggetti. I risultati delle analisi statistiche hanno rivelato quanto segue:

- *Graphidium strigosum*: non vi sono differenze di prevalenza tra le diverse categorie esaminate (Fig. 2).
- Cisticercosi: si è osservata una frequenza maggiore nei conigli di età compresa tra i 4 e i 7 mesi di età e nelle femmine rispetto ai maschi, evidenziabile nell'andamento delle linee riferite alla cisticercosi nella fig. 3. Tuttavia, nessuna di queste differenze è risultata statisticamente significativa: il valore di p era pari, rispettivamente, a 0,066 e 0,073.
- Coccidiosi: sono state riscontrate differenze significative in rapporto alla categoria di peso/età ( $p < 0,001$ ) (Figura 3). Il 37,5% dei conigli di età inferiore ai 4 mesi ha riportato lesioni epatiche riferibili a coccidi, mentre nelle categorie superiori la percentuale di positività è stata rispettivamente del 5% e del 10,53%. Analogamente, attuando il confronto direttamente sul peso corporeo, si è osservata un'associazione significativa ( $p =$

0,003) tra peso medio e infezione: il peso medio dei conigli infetti era di 902,86 grammi ( $\pm 324,21$ ), quello dei conigli sani era di 1169,22 grammi ( $\pm 303,70$ ). Non sono invece state riscontrate differenze in rapporto al sesso.

- Cestodi: la loro presenza è stata riscontrata con maggiore frequenza nella categoria intermedia di età (4 - 7 mesi); anche in questo caso si tratta tuttavia di differenze non statisticamente significative. La prevalenza all'interno dei due sessi ha mostrato valori analoghi.
- Malattia Virale Emorragica: la prevalenza per anticorpi verso tale agente appare maggiore nei conigli di sesso femminile, senza però raggiungere la significatività statistica ( $p = 0,41$ ). La distribuzione del titolo anticorpale differisce nei tre gruppi di peso/età,



**Fig. 3** – Positività per *Graphidium strigosum* (tot. 94 conigli), cisticercosi (tot. 38 conigli), coccidiosi epatica (tot. 14 conigli) e cestodi (tot. 88 conigli) in base al peso/età ed al sesso

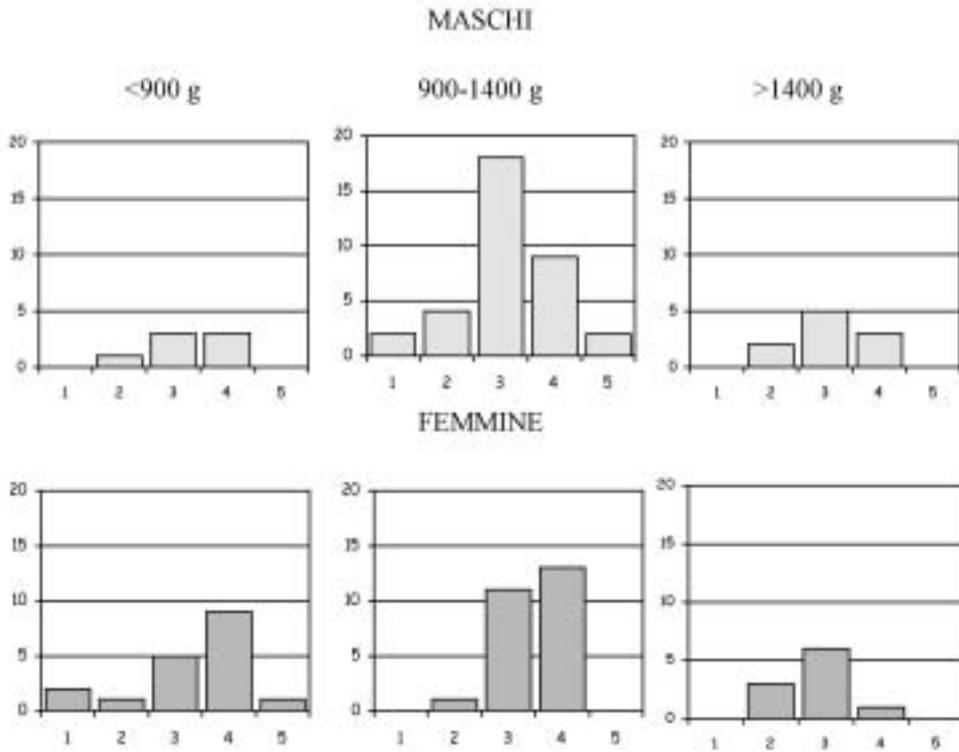


Fig. 4 – Distribuzione delle positività in funzione del numero parassiti presenti contemporaneamente per ciascun sesso e classe di peso/età. Il numero in ascissa si riferisce alla quantità di diversi tipi di parassiti presenti contemporaneamente.

ma non secondo un andamento lineare ( $p = 0,014$ ).

- Mixomatosi: non sono state riscontrate differenze significative né tra i sessi né tra le classi d'età. In realtà nella categoria 3 (>1400 gr) la positività sierologica alla mixomatosi appare più frequente nelle femmine che nei maschi, ma dato che ci si riferisce a un numero molto limitato di casi (7 maschi e 3 femmine), il potere statistico delle analisi risulta insufficiente per evidenziare una differenza nel caso vi fosse.

### 3.7. Indagine epidemiologica

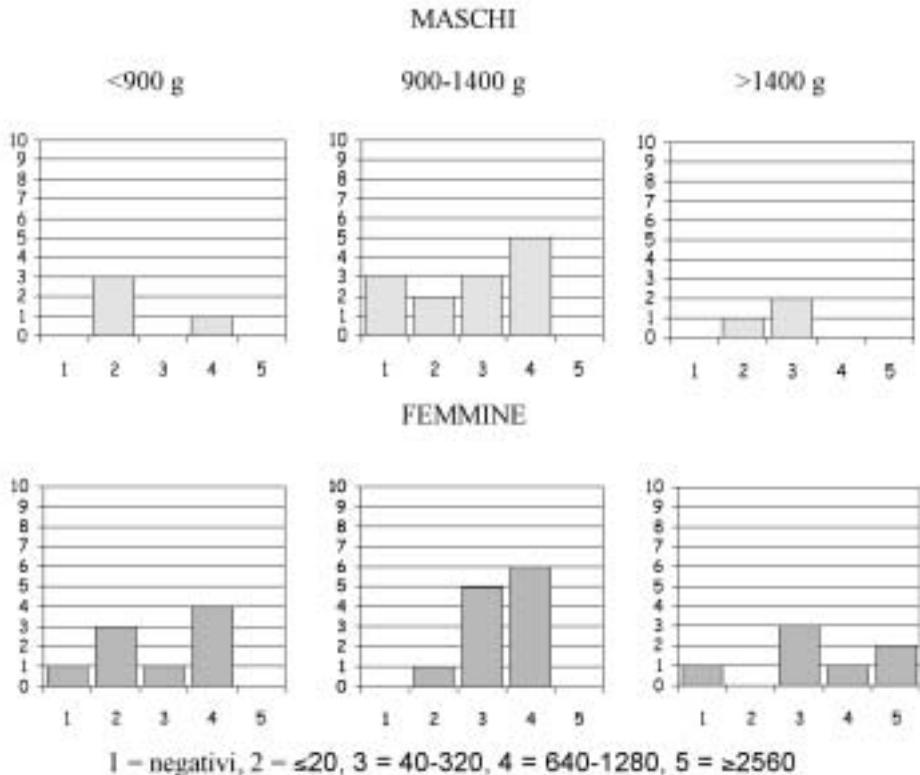
Nel corso del periodo luglio-dicembre 1997 sono stati conferiti, da allevamenti rurali della provincia di Bergamo alla Sezione Diagnostica dell'IZSLER, 8 conigli deceduti con lesioni sospette per la diagnosi virologica di Malattia Virale Emorragica e 3 per la diagnosi di mixomatosi. Nessuno di questi allevamenti era però situato nei due comuni interessati dal prelievo. La diagnosi di MEV è stata confermata in 6 casi, quella per poxvirus della mixomatosi in

tutti i 3 casi esaminati. Tale risultato consente di confermare la presenza in forma endemica delle due malattie in provincia di Bergamo.

### 4. Discussione

Il provvedimento d'abbattimento controllato adottato nel Parco del Serio durante l'estate 1997, ci ha consentito di raccogliere importanti dati relativamente al coniglio selvatico di cui sono disponibili, almeno in Italia, poche informazioni, soprattutto per ciò che concerne la presenza e la diffusione di malattie ad eziologia virale. Tuttavia, ci preme rilevare quanto poco opportuno e soprattutto scarsamente utile e risolutivo sia stato tale intervento. Si ritiene, infatti, che l'abbattimento selettivo di selvaggina finalizzato alla riduzione dell'incidenza di malattie infettive sia una pratica che arreca pochi benefici se non si raggiungono dei livelli soglia di abbattimento, spesso molto elevati, che variano in funzione della dinamica di popolazione di ciascuna specie.

Nel caso specifico, l'abbattimento era stato giustificato dalla necessità di controllare la diffu-



**Fig. 5** – Positività per anticorpi anti-MEV distribuita in funzione del sesso, della classe di titolo e della categoria di peso/età dei conigli.

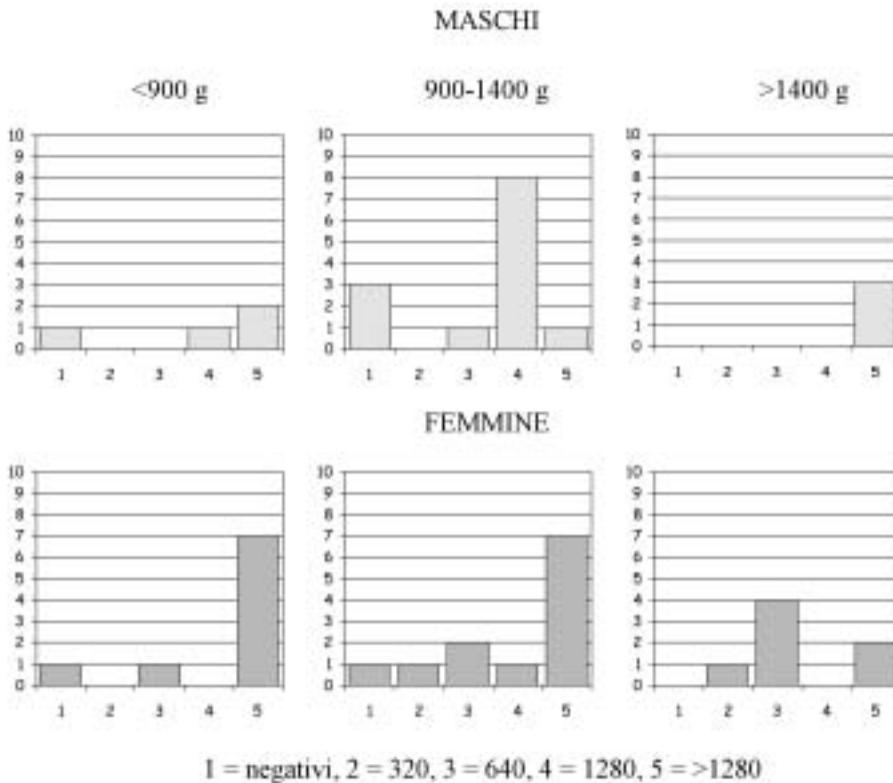
sione della mixomatosi, malattia che riconosce un andamento chiaramente stagionale e densità dipendente, e che peraltro era ampiamente presente anche tra i domestici, soprattutto d'allevamenti rurali, nella stessa area di studio. Il fatto che solo 11 soggetti tra quelli abbattuti abbiano mostrato segni di malattia, che tutti siano stati abbattuti nelle prime fasi d'esecuzione del piano e che comunque si sia evidenziata nei soggetti controllati sierologicamente un'elevata prevalenza, dimostra, a nostro avviso, come la malattia, raggiunto l'apice di diffusione nel mese di luglio, si sarebbe in ogni caso autolimitata anche in assenza d'abbattimento selettivo.

Per ciò che attiene più specificatamente ai risultati dell'indagine diagnostica eseguita, l'analisi dei dati nel loro complesso ed in senso statistico permette di trarre alcune utili indicazioni.

L'esame parassitologico ha confermato, sostanzialmente, i dati riscontrati in precedenti indagini condotte in Sardegna (Leoni et al., 1986), in Sicilia (Giannetto et al., 1998) ed in provincia di Torino (Rossi et al., 1986). In tutti questi

lavori viene, infatti, sottolineata l'elevata frequenza di riscontro sia di ectoparassiti, soprattutto *Spilopsyllus cuniculi*, sia di endoparassiti tra i quali, in particolare, *Passalurus ambiguus*, *Graphidium strigosum* e cestodi. Anche il riscontro di lesioni da cisticerchi (36,9%) è analogo a quanto, rispettivamente 35% e 34,2%, riportato da Rossi et al. (1986) e da Leoni et al. (1986). Comune alle precedenti indagini è anche il dato relativo all'elevata frequenza di poliparassitismo.

Più interessanti sono, a nostro avviso, i dati relativi all'indagine sierologica, ed in particolare per anticorpi anti-MEV e anti-mixomatosi. Infatti, l'esigua sieroprevalenza riscontrata per *T.gondii* induce a considerare tale patogeno scarsamente importante per il coniglio selvatico. Viceversa, l'elevata sieroprevalenza verso il calicivirus della MEV suggerisce alcune ipotesi. La prima è che la malattia è da considerare probabilmente endemica nel territorio considerato, nonostante non vi siano state segnalazioni o riscontri di positività virologica tra i selvatici,



**Fig. 6** – Positività per anticorpi anti-mixomatosi distribuita in funzione del sesso, della classe di titolo e della categoria di peso/età dei conigli.

ma solo tra i conigli rurali e non strettamente nell'area di studio. La scarsa frequentazione del territorio, la presenza di vegetazione ed il fatto che, visto il repentino decorso della MEV, i conigli solitamente muoiono all'interno delle tane, rende assai difficile il ritrovamento delle carcasse; tuttavia il riscontro in alcuni soggetti controllati di titoli elevati, simili a quelli solitamente evidenziabili in soggetti convalescenti (Capucci *et al.*, 1991), è, a nostro avviso, segno indiscutibile di un'infezione da virus MEV o MEV-simile. Non si può, infatti, escludere a priori anche l'ipotesi che questi conigli si siano immunizzati a seguito dell'infezione con un virus privo di potere patogeno, ossia il cosiddetto Rabbit Calicivirus (RCV) recentemente identificato nel nostro Paese (Capucci *et al.*, 1996). Infine, una terza ipotesi non va scartata, dato che anche soggetti molto (1-3 mesi) o relativamente (4-7) giovani, sono risultati sieropositivi; ossia che molti conigli, stante l'elevata densità di animali e lo stato di endemia della MEV nel territorio considerato, si siano

infettati entro le 6-8 settimane di vita, durante il periodo, cioè, in cui sono sensibili all'infezione ma non sviluppano malattia. In questo caso si potrebbe ritenere valido, anche per il coniglio, il modello di diffusione naturale recentemente proposto per la European Brown Hare Syndrome della lepre, che, come noto, è simile alla MEV del coniglio in molti suoi aspetti. Secondo tale modello (Lavazza *et al.*, 1999) l'immunizzazione precoce dei leprotti, sarebbe favorita nelle aree a maggior densità di popolazione. Di conseguenza in queste aree la diffusione del virus in occasione di un focolaio determina livelli di mortalità inferiori o trascurabili, stante il livello di sieroprotezione elevato della maggior parte della popolazione.

Un'ultima considerazione riguarda proprio la mixomatosi: a distanza di quasi 50 anni dalla sua introduzione nel nostro Paese, rappresenta ancor'oggi un serio problema sanitario, spesso trascurato e sottovalutato, tanto nell'allevamento intensivo quanto nel coniglio selvatico. Quest'ultimo rappresenta, molto probabilmente

te, il serbatoio di infezione sia per gli allevamenti rurali che per quelli intensivi. La malattia può presentare dei picchi periodici di comparsa in forma epidemica che sono la risultante di condizioni climatiche favorevoli; a questo proposito, ricordiamo che l'estate del 1997 è stata fresca e piovosa, unitamente ad un'alta densità di popolazione. L'elevata sieropositività riscontrata nel corso dell'indagine depone per un'ampia diffusione del virus nella popolazione considerata; tuttavia il basso numero di soggetti clinicamente malati osservati, è indice di una probabile bassa virulenza del ceppo di virus responsabile. Del resto è noto che il progressivo diffondersi di ceppi attenuati a media o bassa patogenicità, rientrando nella strategia di sopravvivenza del poxvirus della mixomatosi, è un evento comune riscontrato spesso in altri Paesi (es. Australia).

Solo successive e più approfondite ed articolate indagini potranno confermare il carattere auto-limitante, che sembra aver contraddistinto l'episodio di mixomatosi osservato nel Parco del Serio. Inoltre, vista l'estrema povertà di dati disponibili sulla diffusione e presenza della MEV nel coniglio selvatico nel nostro Paese, quale probabile risultato dell'inferiore interesse venatorio rivestito da questa specie rispetto alla lepre, si avverte la necessità di intraprendere delle indagini finalizzate ad acquisire informazioni sullo stato sanitario delle popolazioni stanziali, che dovrebbero necessariamente vedere coinvolte le Amministrazioni Provinciali.

### Bibliografia

- CAPUCCI L., FRIGOLI G., RONSHOLT L., LAVAZZA A., BROCCHI E. & ROSSI C. (1995) - Antigenicity of the Rabbit Hemorrhagic Disease Virus studied by its reactivity with monoclonal antibodies. *Virus Res.*, 37: 221-238.
- CAPUCCI L., FUSI P., LAVAZZA A., PACCIARINI M.L. & ROSSI C. (1996) - Detection and preliminary characterization of a new rabbit calicivirus related to Rabbit Hemorrhagic Disease Virus but nonpathogenic. *J. Virol.*, 70 (12): 8614-8623
- CAPUCCI L., SCICLUNA M.T. & LAVAZZA A. (1991) - Diagnosis of viral haemorrhagic disease of rabbits and the European brown hare syndrome. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 10 (2): 347-370.
- CARACAPPA S., VITALE F. & DI BELLA C. (1989) - Malattia Virale Emorragica del coniglio - Incidenza in animali selvatici e di allevamento. *Atti Società Italiana delle Scienze Veterinarie*, vol. 43 (2): 889-893.
- FUSI A. (1993) - Il coniglio selvatico. *Riv. Coniglicoltura*, 11: 16-18.
- GIANNETTO S., VIRGA A., BACCARANI E.M. & CANESTRI TROTTI G. (1998) - Elminti intestinali in conigli selvatici (*Oryctolagus cuniculus*) della Sicilia. *Atti Società Italiana delle Scienze Veterinarie*, vol. 52.
- LAVAZZA A., GUBERTI V., FERRI M., ZANNI M.L., POGLAYEN G. & CAPUCCI L. (1999) - Epidemiology of EBHS in Modena province (North Italy). *Proceedings 4th International Congress of Veterinary Virology ESVV, Edinburgh (Scotland) 24-27th August 1997*: 34-37.
- LEONI A., GARIPPA G. & ARRU E. (1986) - Principali endoparassiti dei leporidi selvatici (*Oryctolagus cuniculus* e *Lepus mediterraneus*) in Sardegna. *Ann. Ist. Super. Sanità*, 22 (1) 501-504.
- ROSSI L., ROMANO R., CANCRINI G. & IORI A. (1986) - Osservazioni sulla fauna parassitaria della popolazione di conigli selvatici presente nel parco regionale "la Mandria". *Ann. Ist. Super. Sanità*, 22 (1): 341-344.
- SPAGNESI M. & TOSO S. (1991) - Riconoscimento del sesso e determinazione dell'età nella piccola selvaggina stanziale: starna, pernice rossa, fagiano, lepre europea, coniglio selvatico. *Documenti Tecnici INFS*, 9: 49-53.

# INDAGINE SULLA DIFFUSIONE DELL'EBHS NELLA POPOLAZIONE DI LEPRI PRESENTE NEL TERRITORIO DELLA PROVINCIA DI PIACENZA NEL 1997

Cammi G. \*, Capucci L. \*\*, Bernini F.\*\*\*, Lavazza A. \*\*

\* Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia . Sezione di Piacenza. Strada Faggiola, 1  
29027 Gariga di Podenzano. Piacenza.

\*\* Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia. Sede di Brescia. Via Bianchi, 9 - 25124 Brescia.

\*\*\* Provincia di Piacenza. Servizio Tutela del territorio, della Fauna, della Flora -Parchi. Corso Garibaldi, 50  
29100 Piacenza.

**Riassunto** - L'EBHS è presente in forma endemica nella popolazione di lepri presenti nel territorio della Provincia di Piacenza sicuramente dal 1988, anno cui risale la prima segnalazione certa della malattia. Nell'autunno del 1997, la malattia ha mostrato una notevole recrudescenza con comparsa di focolai epidemici in numerose aree sparse sul territorio provinciale. Nel corso dell'anno 1997 sono pervenute alla Sezione Diagnostica di Piacenza dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna 140 lepri, sia come carcasse o visceri di animali trovati morti o moribondi che come visceri di animali regolarmente abbattuti durante la caccia; 117 erano soggetti a vita libera, 11 provenivano da allevamenti e 12 da recinti. Gli accertamenti virologici e sierologici nei confronti dell'EBHS sono stati eseguiti mediante tests ELISA specifici. Delle 127 lepri sottoposte ad esame virologico, 74 sono risultate positive (58,2%) per un totale di 30 focolai di malattia. Il 67,5% dei casi si è verificato nel mese di ottobre. Il 70,7% delle lepri controllate sierologicamente si è rivelato sieronegativo. L'EBHS è stata confermata nel 78,3% dei soggetti trovati morti o moribondi, e solo nel 6% delle lepri abbattute regolarmente durante la caccia. Nei giovani (così detti "nati dell'anno") la positività virologica all'EBHS è stata del 75,9%, nettamente superiore a quella rilevata nel gruppo dei soggetti adulti (45,8%). Il maggior numero di carcasse è pervenuto dalle zone di ripopolamento e cattura, ma la maggiore prevalenza di casi positivi si è registrata nelle zone a caccia libera, dove è stato possibile evidenziare una condizione di diffusa sieronegatività nei giovani e negli adulti. Per quanto riguarda le lepri in cattività, la malattia è stata segnalata in un piccolo allevamento rurale, e nel 90,9% dei soggetti provenienti da recinti. Al termine della stagione di caccia è stato eseguito un controllo sierologico su 128 lepri provenienti da 13 diverse zone di ripopolamento e cattura. La sieropositività è stata dell'84% con una prevalenza (62%) di titoli medio-bassi, a dimostrazione della ampia diffusione dell'infezione sul territorio. La mortalità per EBHS ha inciso pesantemente in tutti gli ambiti considerati, e in particolare nelle zone a caccia libera; la minore densità della popolazione di lepri che normalmente si rileva in questo ambito sembra confermare che nelle aree endemiche l'incidenza della malattia appare rilevante solo dove la densità delle lepri è bassa. Tuttavia a supporto di questa tesi non si possono apportare dati obiettivi, stante la mancata disponibilità dei dati relativi alla densità delle lepri nel territorio della Provincia.

**Abstract** - EBHS investigation in wild and captive hare populations in Piacenza Province (Northern Italy) in 1997. EBHS has been endemic in Piacenza Province for at least ten years. In 1997, during autumn, several epidemic outbreaks of disease, resulting in large numbers of deaths in brown hares, have been recorded. A total of 140 hares were submitted for examination to the Laboratory of Piacenza of the Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna; these were carcasses of hares found dead or clinically ill, and organs (livers) of hares killed during hunting season. 117 were wild hares, 33 were captive hares. Viral and serologic investigations for EBHSV were performed using specific ELISA tests. On the bases of the results obtained we tried to explain the epidemiological features of this epidemic outbreak of EBHS, according with a recently proposed deterministic model explaining the diffusion of disease in endemic areas. Viral examination of the 127 hares yielded positive results for EBHSV in 74 cases (58.2%); in the whole territory of the province thirty different disease outbreaks were identified. EBHS cases were more frequent (67.5%) in October. Sera collected from examined hares gave negative results for anti-EBHSV antibodies in 70.7% of cases, indicating high susceptibility of animals to the disease. EBHS was diagnosed in 78.3% of dead or ill hares, but only in 6% of healthy hares killed during the hunting season. Mortality was higher among young hares (75.9%), than among adults animals (45.8%). Carcasses came mostly from protected (restocking) zones, but EBHS was diagnosed more frequently in hunting areas, in which we detected a high percentage of seronegative animals. Finally a total of 128 sera was collected at the end of the hunting season from hares captured in thirteen different restocking areas. The seroprevalence was 84% and most of the hares (62%) showed low-medium titres. The lack of data concerning the density of hares in our territory, only allows to support but not to confirm the deterministic model explaining the natural diffusion of the disease on the field recently proposed.

J. Mt. Ecol., 7: 165- 174

## 1. Introduzione

La Sindrome della Lepre Bruna Europea (EBHS) è una patologia virale della lepre, altamente contagiosa e ad elevata mortalità, presente in forma endemica in tutto il territorio Italiano, come in gran parte dei Paesi Europei (Chasey e Duff, 1990; Eskens *et al.*, 1987; Gavier *et al.*, 1989; Henriksen *et al.*, 1989; Lavazza *et al.*, 1992; Lavazza e Vecchi, 1989; Okerman *et al.*, 1989; Sostaric *et al.*, 1991). Ben caratterizzata da un punto di vista eziologico ed anatomo-clinico, la malattia presenta ancora aspetti relativi alle modalità di diffusione non totalmente chiariti, che ne rendono problematico il controllo nella popolazione di lepri a vita libera.

### 1.1. EBHS in provincia di Piacenza: cenni storici

Il primo caso certo di EBHS in lepri presenti nel territorio della Provincia di Piacenza risale al 1988. La malattia fu diagnosticata in due lepri di circa sei mesi di età provenienti da un piccolo allevamento rurale. Tuttavia, analogamente a quanto è avvenuto in altre provincie italiane, la prima segnalazione di malattia non ha probabilmente coinciso con la comparsa e la successiva diffusione dell'EBHS nel nostro territorio; negli anni precedenti vi erano state, infatti, numerose segnalazioni, da parte di cacciatori e Guardie venatorie, sulla significativa diminuzione del numero di lepri in alcune aree di ripopolamento e cattura ed in molti di questi casi la mortalità venne associata a fatti di tossicosi o addirittura ad un incremento del prelievo illegale di animali dal territorio. Nel 1987, il numero di lepri conferite al nostro laboratorio diagnostico fu di 34 esemplari anche se le notizie anamnestiche riferivano molto spesso del ritrovamento nelle stesse zone di numerose altre carcasse. Inoltre, in almeno 2 soggetti tra

quelli esaminati, il quadro anatomo-patologico era sovrapponibile a quello poi rivelatosi tipico dell'EBHS ma, non essendo note a quel tempo la natura e l'eziologia di tale malattia, in quell'occasione non vennero eseguiti accertamenti virologici.

Negli anni successivi alla prima segnalazione, e più precisamente fino al 1997, l'EBHS è stata diagnosticata presso il nostro laboratorio in pochi esemplari sia selvatici che di allevamenti rurali (Tab. 1). Il numero esiguo di lepri, esaminato in quegli anni, non ha permesso di ottenere informazioni utili circa la reale diffusione dell'infezione nella popolazione di lepri presenti in ambito provinciale. Tuttavia, da questi dati è stato comunque possibile rilevare alcune caratteristiche epidemiologiche della malattia, quale la maggiore incidenza nei mesi autunnali e la tipica diffusione "a macchia di leopardo" sul territorio.

Nell'inverno del 1989 e del 1990, al termine della stagione venatoria, sono stati eseguiti dei controlli sierologici a campione su lepri catturate in seidiverse zone di ripopolamento della pianura e della collina: i sieri controllati sono stati 48 e tutti hanno presentato una positività medio-alta per anticorpi specifici nei confronti del virus dell'EBHS (EBHSV). Questi dati hanno rappresentato un'ulteriore conferma della probabile presenza dell'infezione in tutto il territorio, anche in zone dove fino a quel momento non vi erano state segnalazioni di casi di malattia.

### 1.2. EBHS in provincia di Piacenza: situazione attuale

Nel 1997, con l'avvicinarsi dell'apertura della stagione di caccia (fine Settembre- inizio Ottobre), sono diventate sempre più frequenti le segnalazioni di episodi di mortalità nelle lepri selvatiche. Dopo i primi accertamenti dia-

**Tab. 1** - Lepri conferite presso la Sezione di Piacenza dell'IZSLER e casi di positività per EBHS negli anni 1988-1997

Anno	Totale lepri conferite durante l'anno	Totale lepri positive per EBHS
1987	34	(2?)
1988	27	1
1989	23	7
1990	9	3
1991	21	1
1992	27	10
1993	10	0
1994	12	1
1995	18	3
1996	12	1
1997	140	74

gnostici, è parso evidente che la malattia stava causando focolai epidemici in diverse aree del nostro territorio. Tramite il coordinamento tra l'Amministrazione provinciale (Servizio tutela del territorio, della flora e della fauna), i Servizi veterinari, i rappresentanti delle Associazioni venatorie, i Tecnici faunistici e l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna (IZSLER) si è voluta seguire la diffusione dell'epidemia al fine di acquisire il maggior numero di informazioni circa le modalità della sua comparsa. I cacciatori e le guardie provinciali, opportunamente sensibilizzati al problema attraverso una serie di incontri, sono stati invitati a consegnare alla Sezione diagnostica di Piacenza dell'IZSLER le carcasse di lepri trovate morte ed i visceri delle lepri abbattute regolarmente. Ai rappresentanti dei vari Ambiti Territoriali di Caccia (ATC), inoltre, sono state consegnate anche schede da compilarsi con i dati relativi ai ritrovamenti di lepri morte nei territori di competenza, con invito a dare una valutazione, anche se soggettiva, sulla densità delle lepri rispetto agli anni precedenti. Al termine della stagione di caccia, in occasione delle catture, sono stati effettuati, a cura dei veterinari dell'A.S.L., dei prelievi di sangue sulle lepri, per poter verificare lo stato di protezione immunitaria nella popolazione sopravvissuta alla malattia oltre che al prelievo venatorio.

### 1.3. Scopo del lavoro

Lo scopo di questo lavoro è quello di verificare se, attraverso l'analisi dei dati derivanti dall'attività diagnostica di laboratorio sulle lepri pervenute nel corso dell'anno 1997, è possibile acquisire informazioni utili a spiegare la dinamica della diffusione della malattia nella popolazione delle lepri selvatiche e contribuire ad una migliore gestione sanitaria del patrimonio faunistico nel nostro territorio.

### 2. Materiali e metodi

Di tutte le lepri conferite presso la Sezione diagnostica di Piacenza dell'IZSLER nel corso del 1997, come carcasse o come visceri, veniva compilata una "scheda anamnestica", in cui comparivano, per le lepri a vita libera le seguenti informazioni: condizione del ritrovamento (trovata morta, rinvenuta viva ma con segni di malattia, abbattuta regolarmente durante la caccia), località di provenienza, ambito di interesse venatorio (zona di ripopolamento e cattura, zona a caccia libera, azienda faunistico-venatoria, zona addestramento cani,

ecc.), sesso, età ed eventuale presenza di altri soggetti morti nella zona. Nel caso di lepri allevate in cattività i dati richiesti erano relativi a: ubicazione e consistenza dell'allevamento o del recinto, nome del proprietario, eventuale provenienza degli animali, mortalità e morbilità, interventi terapeutici e vaccinali. Nel caso di lepri di importazione erano registrate anche la provenienza e la località di lancio.

Durante l'esame necroscopico delle carcasse, si prelevavano i visceri per gli esami batteriologici (quando le condizioni di conservazione lo permettevano), parassitologici, virologici ed il sangue per l'esame sierologico. Gli esami virologici e sierologici erano eseguiti esclusivamente in funzione dell'EBHS.

Sempre in ambito autoptico si è provveduto, anche se non su tutte le lepri pervenute, a determinare il sesso e l'appartenenza al gruppo di età (giovani o così detti "nati dell'anno" = <9 mesi; adulti = >9 mesi) attraverso la palpazione del tubercolo di Stroh. La ricerca del virus dell'EBHS, è stata condotta su tutti quei soggetti che presentavano lesioni anatomo-patologiche tipiche o sospette, nei casi in cui lo stato di putrefazione era avanzato e rendeva di difficile interpretazione il quadro autoptico e quando vi erano solo visceri a disposizione, indipendentemente dalla presenza o meno di lesioni. La ricerca virale è stata condotta anche su tutti i visceri di lepri in apparente buono stato di salute abbattute durante la caccia. Gli esami sierologici sono stati effettuati sul sangue prelevato dalle carcasse in ambito autoptico, sui campioni di sangue che accompagnavano eventualmente i visceri inviati e sul sangue prelevato nel corso del monitoraggio sierologico a fine caccia.

Gli accertamenti virologici e sierologici venivano eseguiti rispettivamente su omogenati al 10% di fegato e/o milza e su siero, tramite tests ELISA specifici, presso il Laboratorio di immunobiochimica della sede di Brescia dell'IZSLER (Capucci *et al.*, 1991 a,b).

### 3. Risultati

Le lepri pervenute al Laboratorio della sezione di Piacenza nel corso dell'anno 1997 sono state 140, di cui 100 come carcasse e 40 come visceri. L'88% dei conferimenti è avvenuto nel periodo autunnale, più precisamente nei mesi di settembre, ottobre e novembre (Fig. 1). Le carcasse appartenevano in 92 casi ad animali trovati morti, in 7 casi a lepri rinvenute agonizzanti o con evidenti segni di malattia e comunque morte dopo la cattura e, solo in un caso, ad

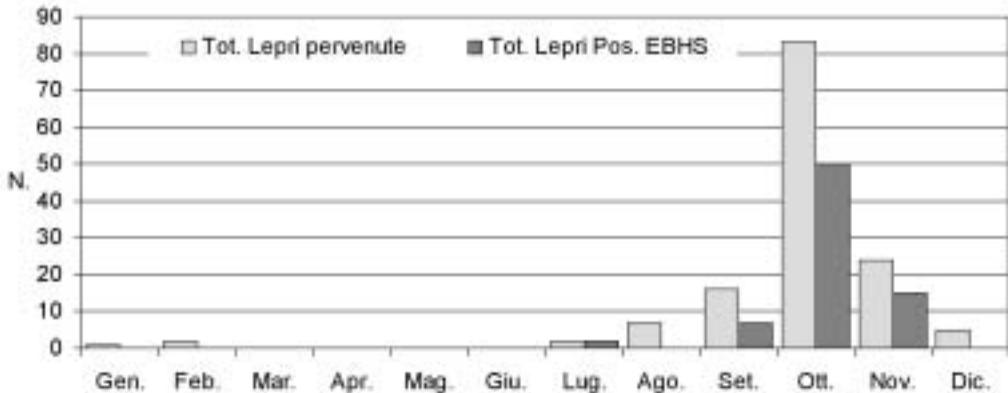


Fig. 1 – Casi di positività all'EBHS in relazione al numero di lepri pervenute mensilmente al Laboratorio

una lepre, in apparente buono stato di salute, cacciata regolarmente; i visceri erano stati prelevati da 32 lepri abbattute durante la caccia, e da 8 soggetti trovati morti o moribondi.

Gli animali giovani, i cosiddetti "nati dell'anno", prevalevano sui soggetti adulti, rispettivamente 67 (58,2%) e 48 (41,7 %) delle 115 carcasce di cui era stata determinata l'età. Il sesso è stato controllato in 81 soggetti, 43 maschi e 38 femmine. Delle 140 lepri sottoposte alla nostra indagine, 117 erano soggetti a vita libera, 11 esemplari provenivano da piccoli allevamenti rurali e 12 da recinti gestiti da cacciatori (Tab. 2).

Gli invii sono stati rappresentativi della quasi totalità del territorio provinciale, ed hanno riguardato 15 dei 17 ATC in cui il territorio stesso è diviso. Gli ambiti di provenienza erano rappresentati da 18 zone di ripopolamento e cattura, 36 diverse località situate in zone a caccia libera, 9 aziende faunistico o agrituristi-

co venatorie, 1 zona addestramento cani, 3 recinti e 2 allevamenti rurali. Sempre in relazione alla provenienza, vi è stata una netta prevalenza d'invii da località situate nella fascia orientale della Provincia, compresa tra il confine con la Provincia di Parma e il torrente Nure, fino al mese d'ottobre, ad iniziare dal quale la malattia è stata segnalata sempre più frequentemente anche nella parte occidentale della Provincia

**3.1 Esami virologici e sierologici sulle lepri conferite**

Gli accertamenti virologici sono stati effettuati su 127 lepri e, di queste, 74 (58,2%) sono risultate positive. Il 67,5% dei casi di positività ha riguardato i conferimenti del mese d'ottobre. Nella Figura 2 è possibile vedere la distribuzione geografica e temporale dei casi di positività all'EBHS sul territorio della Provincia.

Sono stati individuati 30 diversi focolai di

Tab. 2 - Lepri conferite alla Sezione di Piacenza nel corso del 1997. Dati anamnestici: stato del ritrovamento, ambito di provenienza, età

Condizione del ritrovamento	Tot. lepri/ Età nota	Zona di ripopolamento e cattura		Zona di caccia libera		PROVENIENZA													
						Azienda faunistico-venatoria		Recinto		Allevamento		Zona addestramento cani							
						Tot.	<1a Ad.	Tot.	<1a Ad.	Tot.	<1a Ad.	Tot.	<1a Ad.	Tot.	<1a Ad.				
Trovate morte	96/79	39	17	15	19	9	7	14	6	3	11	8	3	11	10	0	2	1	0
Cacciate regolarmente	33/28	0	0	0	21	10	9	12	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Trovate vive con sintomatologia	11/8	5	4	0	5	2	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
<b>TOT.</b>	<b>140/115</b>	<b>44</b>	<b>21</b>	<b>15</b>	<b>45</b>	<b>21</b>	<b>17</b>	<b>26</b>	<b>6</b>	<b>12</b>	<b>12</b>	<b>8</b>	<b>4</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>0</b>

**Tab. 3** - Esami virologici e sierologici nei confronti dell'EBHS eseguiti sulle lepri conferite in relazione (a) allo stato del ritrovamento e (b) all'età

A)												
Condizione del ritrovamento	Tot. Lepri/Esaminate	Es. virologico N. (%)	Es. sierologico N. (%)	Titoli anticorpali								
				1: 10	1: 20	1: 40	1: 80	1: 160	1: 320	1: 640	1: 1280	
Trovate morte	96/83	Pos.	P.N. 41	89,1%								
		65	P.P. 05	10,9%	2	2						1
		(78,3%)	P.ne. 19	29,2%								
		Neg.	N.N. 1	12,5%								
		18	N.P. 7	87,5%		1	1	1	3			
(21,7%)		N.ne. 10	55,5%									
Cacciate regolarmente	33/33	Pos.	P.N. 0	0,0%								
		2	P.P. 0	0,0%								
		(6,1%)	P.ne. 2	100,0%								
		Neg.	N.N. 2	33,3%								
		31	N.P. 4	66,7%				1		2		1
(93,9%)		N.ne. 25	80,6%									
Trovate vive con sintomatologia	11/11	Pos.	P.N. 1	25,0%								
		7	P.P. 3	75,0%		1					2	
		(63,6%)	P.ne. 3	42,9%								
		Neg.	N.N. 1	100%								
		4	N.P. 0	0,0%								
(36,4%)		N.ne. 3	75,0%									

B)												
Condizione del ritrovamento	Tot. Lepri/Esaminate	Es. virologico N. (%)	Es. sierologico N. (%)	Titoli anticorpali								
				1: 10	1: 20	1: 40	1: 80	1: 160	1: 320	1: 640	1: 1280	
Adulti	48/48	Pos.	P.N. 13	81,2%								
		22	P.P. 3	18,8%	1	1					1	
		(45,8%)	P.ne. 6	27,2%								
		Neg.	N.N. 2	20,0%								
		26	N.P. 8	80,0%		1	1	2	2	1		1
(54,2%)		N.ne. 16	61,5%									
Giovani	67/58	Pos.	P.N. 27	84,4%								
		44	P.P. 5	15,6%	1	2				1	1	
		(75,9%)	P.ne. 12	27,2%								
		Neg.	N.N. 2	40,0%								
		14	N.P. 3	60,0%					1	1		1
(24,1%)		N.ne. 9	64,3%									

PN. Positività virologica / Negatività sierologica; P.P. Positività virologica / Positività sierologica; P/N.ne. Positività o Negatività virologica / Esame sierologico non eseguito

malattia, considerando spostamenti da parte delle lepri non superiori ai tre km, rispetto al punto di ritrovamento della carcassa o del soggetto malato. Le lepri controllate sierologicamente sono state 65, delle quali 46 (70,8%) sono risultate negative e 19 (29,2%) positive. Nella Tabella 3 sono indicati le positività virologiche e il rispettivo stato sierologico nei vari gruppi di lepri in base alla condizione di ritrovamento ed all'età. L'EBHS è stata confermata nel 78,3% degli animali trovati morti, che, per la maggior parte (89,1%), si presentavano privi di difese immunitarie specifiche. Nei soggetti rinvenuti moribondi, generalmente con gravi deficit motori che ne hanno facilitato la cattura da parte dei cani o l'abbattimento, la condi-

zione di positività virologica (63,6%) si accompagnava alla presenza di anticorpi specifici nel siero nel 75% dei casi, ad indicare un probabile decorso cronicizzante della malattia. Nelle lepri regolarmente cacciate, con normale istinto di fuga, la positività virologica si riduceva al 6%. In questo gruppo il controllo sierologico è stato eseguito solo su sei lepri virologicamente negative: di queste 4 (66,6%) hanno presentato titoli anticorpali specifici medio-alti, mentre le rimanenti due sono risultate sieronegative. Relativamente all'età, appare evidente che nei giovani la recettività alla malattia per mancanza d'anticorpi specifici è, come ci si aspettava, più elevata (75,9%) rispetto agli adulti (45,8%). Se si considera l'ambito venatorio di prove-

**Tab. 4** - Esami virologici e sierologici nei confronti dell'EBHS nei gruppi di lepri di diversa provenienza

ZONA DI RIPOPOLAMENTO E CATTURA									
Trovate morte	39	Tot. esaminate	36	Tot. positive	25 (69,4%)	Giovani	17	Pos.	13 (86,7%)
								Neg.	2 (13,3%)
Vive con sintomi	5	Tot. esaminate	5	Tot. positive	3 (75,0%)	Giovani	4	Pos.	3 (75%)
								Neg.	1 (25%)
ZONA A CACCIA LIBERA									
Trovate morte	19	Tot. esaminate	18	Tot. positive	15 (83,3%)	Giovani	9	Pos.	8 (88,9%)
Vive con sintomi	5	Tot. esaminate	5	Tot. positive	3 (60,0%)	Giovani	2	Pos.	1 (50%)
Cacciate regolarm.	21	Tot. esaminate	21	Tot. positive	2 (9,5%)	Giovani	10	Neg.	1 (50%)
								Pos.	2 (20%)
								Neg.	8 (80%)
AZIENDA FAUNISTICO-VENATORIA									
Trovate morte	14	Tot. esaminate	14	Tot. positive	10 (71,4%)	Giovani	6	Pos.	6 (100%)
Cacciate regolarm.	12	Tot. esaminate	12	Tot. positive	0	Giovani	0	P.ne.	2
RECINTO									
Trovate morte	11	Tot. esaminate	10	Tot. positive	9 (90%)	Giovani	8	Pos.	6 (85,7%)
Vive con sintomi	1	Tot. esaminate	1	Tot. positive	1 (100%)	Giovani		Neg.	1 (14,3%)
								0	
ALLEVAMENTO									
Trovate morte	11	Tot. esaminate	4	Tot. positive	4 (100%)	Giovani	10	Pos.	4
ZONA ADDESTRAMENTO CANI									
Trovate morte	2	Tot. esaminate	1	Tot. positive	1 (100%)				

P.N. Positività virologica / Negatività sierologica; P.P. Positività virologica / Positività sierologica; P/N.ne. Positività o Negatività virologica / Esame sierologico non eseguito

6)	P.N. P.P. P.ne.	10 2 (1:20, 1:640) 1	Adulti	15	Pos.	8 (53,3%)	P.N. P.P. P.ne.	5 1 (1:20). 2
6)	N.ne. N.P. N.e.	1 1 (1:160) 2			Neg.	7 (46,7%)	N.P. N.ne.	(1:20,1:80, 1:160, 1:160, 1:1280) 2
)	P.P. P.ne.	1 (1:20) 2						
)	N.N.	1						
6)	P.N. P.P. P.ne.	5 1 (1:10) 2	Adulti	7	Pos.	6 (85,7%)	P.N. P.ne.	4 2
)	P.P.	1 (1:320)	Adulti	1	Pos.	1 (100%)	P.N.	1
)	N.ne.	1						
)	P.ne.	2	Adulti	9	Pos.	0		
)	N.P.	2 (1:320,1:1280)			Neg.	9 (100%)	N.N. N.P. N.ne.	2 1 6
)	N .ne.	6						
)	P.N.	4	Adulti	3	Pos.	3 (100%)	1P.P.(1:10) /2Pne	
			Adulti	9	Pos.	0		
					Neg.	9 (100%)	N.P. N.ne.	1 (1:320) 8
6)	P.N. P.ne.	4 2	Adulti	3	Pos.	3 (100%)	P.N.	3
6)	N.N.	1	Adulti	1	Pos.	1 (100%)	P.P.	1 (320)
4 P.N.								

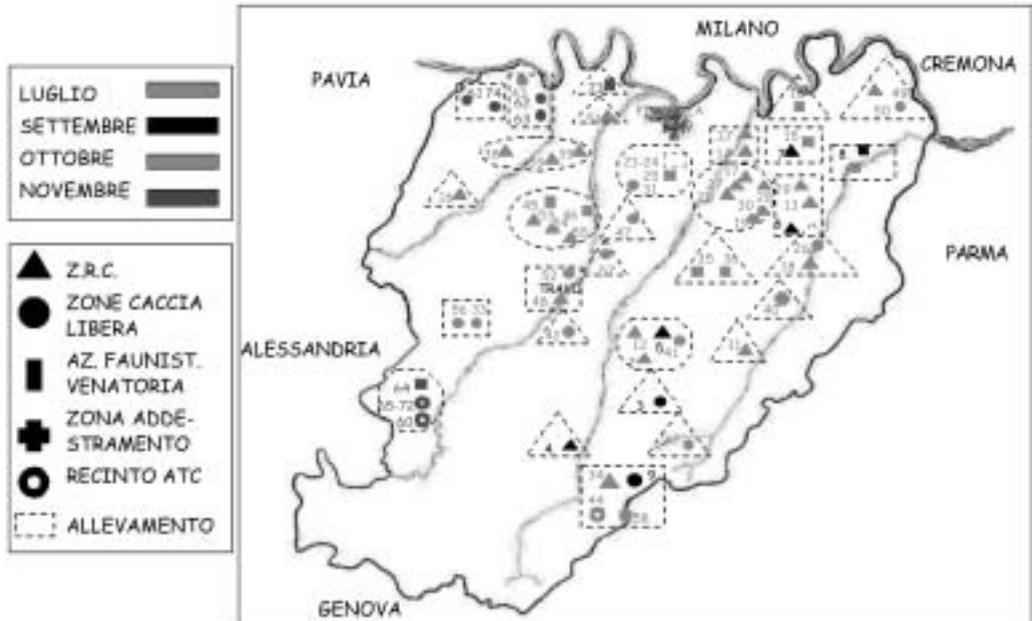


Fig. 2 – Distribuzione geografica e temporale dei casi di positività all'EBHS sul territorio della Provincia di Piacenza nel 1997

nienza delle lepri trovate morte o malate, si può notare che il maggior numero di conferimenti si è avuto dalle zone di ripopolamento e cattura, ma la maggior prevalenza di casi positivi è stata registrata nelle lepri provenienti da zone a caccia libera: 18 lepri positive su 23 controllate virologicamente (Tab. 4). Analizzando i vari gruppi di età, inoltre, si può notare che nel gruppo delle giovani lepri la positività virologica in assenza di anticorpi specifici era sempre molto elevata, indipendentemente dall'ambito considerato, mentre differenze significative si notavano nei gruppi degli adulti. Nei territori a caccia libera e nelle aziende faunistico venatorie, la percentuale di positività virologica negli adulti trovati morti o morenti durante l'epidemia, variava dall'85 al 100%, mentre nelle zone di ripopolamento e cattura ha interessato poco più della metà (53,3%) dei soggetti esaminati. L'interpretazione di questi dati, al fine di valutare l'impatto della malattia nei vari ambiti venatori considerati, non può prescindere, tuttavia, dalla conoscenza, dei relativi valori di densità delle lepri che, peraltro, non sono disponibili.

Per quanto riguarda le lepri allevate in cattività, nei recinti la positività virologica è stata del 90,9% dei soggetti esaminati, rappresentati

soprattutto da giovani. Nel caso degli allevamenti, 7 degli 11 soggetti pervenuti erano leprotti di pochi mesi. La malattia è stata diagnosticata in solo un allevamento di 20 coppie, appartenente ad un'azienda faunistica, in cui 4 soggetti di 6 mesi sono deceduti e risultati positivi agli esami virologici.

### 3.2. Esami sierologici su lepri catturate

L'esame sierologico per anticorpi anti-EBHS è stato eseguito sui sieri di 128 lepri catturate in 13 diverse zone di ripopolamento e cattura. La sieropositività è stata dell'84%, con una prevalenza di titoli medio-bassi (1:40-1:320). Lo stesso tipo di riscontro si è avuto in ciascuna zona in cui è stato prelevato un numero di sieri sufficientemente elevato (Tab. 5). Una condizione di diffusa negatività è stata riscontrata solo in località Corte Brugnatella, dove tutti i 9 sieri prelevati non hanno mostrato titoli anticorpali, peraltro da questa zona di alta collina, durante il periodo considerato, non sono mai pervenuti animali morti né sono stati segnalati ritrovamenti di carcasse.

### 4. Discussione

La presenza di EBHS nella popolazione delle lepri selvatiche della Provincia di Piacenza può

**Tab. 5** - Esito degli esami sierologici per anticorpi anti-EBHS in sieri di lepre selvatiche provenienti da 13 zone di ripopolamento e cattura della Provincia di Piacenza

Zona di ripopolamento e cattura	Neg.	<1/10	1:10	1:20	1:30	1:40	1:80	1:120	1:160	1:320	1:640	Tot. sieri
Media Val nure												
Podenzano /Loc.Nure	1		1	3		1	3	2		2		13
San Damiano	1		3	6				2		1		13
Ponte dell'Olio	2			4		1	1	2				10
San Giorgio	1			5		3		3				11
Vigolzone	1		1	5	1			2	1			59
Baselica Duce	1		1					1	1			4
Cadeo			1	1		1			1	1		5
Muradello				1		2			1	1		5
Fiume Trebbia												
Bobbio			2	1		4	1	3	2			13
Corte Brugnatella	7	2										9
Borgonovo						2					1	3
Monticelli - S.Pietro	2	1	1	4			1	1	1	1		12
Sarmato				2			1					3
Albareto			1									1
Val Chiavenna-Chero	1											1
Celleri			1									1
Boffalora/2				1		2	1					4
Del Trebbia (Gragnano)				4		1	2		1			8
Tot. Sieri	17	3	12	37	1	17	10	16	8	6	1	128
%	13,3%	2,3%	9,4%	28,9%	0,8%	13,3%	7,8%	12,5%	6,2%	4,7%	0,8%	100%

considerarsi endemica da almeno una decina d'anni: la recrudescenza della malattia nell'autunno del 1997, potrebbe inquadrarsi in quell'andamento ciclico e periodico che è stato osservato in occasione di precedenti studi epidemiologici (Lavazza *et al.*, 1992). Il dato di positività virologica (58,2%), risultante dalle indagini condotte, è sicuramente indicativo del fatto che il virus ha trovato una condizione di totale recettività in una gran parte della popolazione, rappresentata soprattutto da individui giovani, di età inferiore all'anno.

Secondo il modello deterministico di diffusione della malattia nelle aree endemiche proposto recentemente e derivante da uno studio epidemiologico condotto in Provincia di Modena, l'immunizzazione precoce dei leprotti sarebbe favorita nelle aree a maggior densità di popolazione, dove di conseguenza la mortalità, in occasione della comparsa di un focolaio, risulta più ridotta (Lavazza *et al.*, 1997). I giovani, infatti, che vengono a contatto con il virus precocemente, cioè prima dei 2-3 mesi di età, si infettano e sviluppano un buon livello di immunità ma non contraggono la malattia.

I dati derivati dall'indagine diagnostica condotta, non potendo essere integrati con i valori di densità delle lepri nei diversi ambiti venatori

considerati, non forniscono elementi obiettivi a supporto di questa teoria. Tuttavia la sola interpretazione dei dati numerici permette di fare alcune considerazioni. La maggiore prevalenza di positività per EBHS si è registrata nel gruppo di lepri morte o malate rinvenute in territori a caccia libera, dove la malattia sembra aver trovato una popolazione, non solo di giovani, ma anche di adulti, completamente recettiva. Pur non disponendo di dati certi, possiamo supporre che la densità della popolazione, in quest'ambito sia fisiologicamente bassa, sia per il prelievo venatorio periodico, sia per la consuetudine di attuare i ripopolamenti tramite soggetti di importazione.

Nelle aree di ripopolamento e cattura, la malattia ha sicuramente inciso pesantemente, anche se in maniera differenziata, come dimostrato dal numero elevato di soggetti trovati morti pervenuti in laboratorio o rinvenuti morti sul territorio. Tuttavia le catture eseguite alla fine della stagione venatoria non hanno messo in evidenza una situazione di preoccupante diminuzione della densità di lepri selvatiche; anzi il numero di lepri catturate nelle diverse zone è stato superiore alle previsioni. Pur considerando le variabili che possono incidere d'anno in anno sul risultato delle catture,

questo dato obiettivo sembra indicare che, in generale, l'impatto della malattia nelle zone protette non è stato devastante. Poco significativo appare essere a questo riguardo il dato sierologico, che ci descrive la situazione post-epidemia, ma non ci fornisce informazioni sullo stato immunitario delle lepri prima della comparsa dei focolai di mortalità.

Nelle lepri allevate in cattività è da segnalare l'elevata incidenza di malattia nei soggetti allevati nei recinti, dove la popolazione di lepri è rappresentata soprattutto da giovani.

I risultati derivanti dalla compilazione delle schede distribuite ai rappresentanti degli ATC, pur con tutti i limiti connessi a questo tipo di sondaggio, nel loro complesso sono rappresentativi della realtà del territorio. La maggior parte delle rilevazioni è stata fatta nel mese di ottobre, nel quale si è avuta la più alta incidenza di mortalità. Se ne desume che l'impatto della malattia sulla popolazione di lepri sembra molto diverso secondo le zone considerate, anche all'interno dei vari ambiti.

### 5. Ringraziamenti

Si ringrazia la Sig.ra Giulia Cerutti, della Sezione Diagnostica di Piacenza, per la valida assistenza tecnica in laboratorio ed i Veterinari dell'A.S.L. di Piacenza per la collaborazione prestata nell'eseguire i prelievi sierologici, in occasione delle catture delle lepri.

### Bibliografia

- CAPUCCI L., SCICLUNA M.T. & LAVAZZA A. (1991a) - The diagnosis of the viral Haemorrhagic Disease Virus and European Brown Hare Syndrome. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 10 (2): 347-370.
- CAPUCCI L., SCICLUNA M.T. & LAVAZZA A. (1991b) - Protocollo delle reazioni ELISA per la diagnosi virologica e sierologica della Malattia Emorragica Virale del coniglio (RVHD) e virologica della European Brown Hare Syndrome (EBHS). *Sel. Vet.*, 32 (9): 1381-1397.
- CHASEY D. & DUFF P. (1990) - European brown hare syndrome and associated virus particles in the UK. *Vet. Rec.*, 126: 623-624.
- ESKENS U., KLIMA H., NILZ J. & WIEBAND D. (1987) -

- Leber dystrophie bei Hasen. Pathologie und epidemiologische Untersuchungen eines Feldhasensterns in Mittelhessen. *Tierarzt. Prax.*, 15: 229-235.
- GAVIER D., BEER J.V., ERNE K., ESKENS U., FRYLESTAM B., IPPE R., LOUZIES C., LAVAZZA A., MORNER T., OKERMAN L., POLI E., SCHNEIDER E. & STEINECK T. (1989) - Report of the Meeting on "Disease of hares and European Brown Hare Syndrome". October 27-30, National Veterinary Institute, Uppsala, Sweden (non pubblicato).
- HENRIKSEN P., GAVIER D. & ELLING F. (1989) - Acute necrotising hepatitis in Danish farmed hares. *Vet. Rec.*, 125: 486-487.
- LAVAZZA A., SCICLUNA M.T., CORRADINI L., POLI A., BARIGAZZI G., CAMMI G. & CAPUCCI L. (1992) - Diagnostic procedures for European Brown Hare Syndrome (EBHS): application in epidemiological surveys in two Italian regions. *Proceedings 14th Conference of the OIE Regional Commission for Europe, 2-5 Ottobre 1990, Sofia, Bulgaria, Paris, OIE*, pp. 133-152.
- LAVAZZA A. & VECCHI G. (1989) - Osservazioni su lacuni episodi di mortalità nella lepore: evidenziazione al Microscopio Elettronico di una particella virale. Nota preliminare. *Sel. Vet.*, 30: 461-468.
- LAVAZZA A., GUBERTI V., FERRI M., ZANNI M.L., POGLAYEN G. & CAPUCCI L. (1997) - Epidemiology of EBHS In Modena province (North Italy). *Proceedings 4th International Congress of Veterinary Virology ESVV, Edinburgh (Scotland) 24-27th August 1997*.
- SCICLUNA M.T., CAPUCCI L. & LAVAZZA A. (1994) - European Brown Hare Syndrome (EBHS) in Northern Italy: results of virologic and serologic tests. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epizoot.*, 13 (3): 893-904.
- OKERMAN L., VAN DE KERCKHOVE P., OSAER S., DEVRIESE L. & UYTTEBROEK E. (1989) - European Brown Hare Syndrome Bij in Gevangenschap Levende Hazen (*Lepus capensis*) In Belgie. *Vlaams Diergeneesk Tijdschr.*, 58: 44-46.
- SOSTARIC B., LIPEJ Z., FUCHS R. & PAUKOVIC C. (1991) - Disappearance of free living hares in Croatia: European Brown Hare Syndrome. *Vet. Arch.*, 61 (3): 133-150.
- ZANNI M. L., BENASSI M.C., SCICLUNA M.T., LAVAZZA A. & CAPUCCI L. (1993) - Clinical evolution and diagnosis of an outbreak of European Brown hare syndrome in hares reared in captivity. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epizoot.*, 12(3): 931-940.

# EMISSIONE DI COCCIDI E UOVA DI ELMINTI GASTROINTESTINALI IN UNA POPOLAZIONE DI CAMOSCIO ALPINO IN CALO DEMOGRAFICO.

Stancampiano L.\*; Cassini R.\*\*; Dalvit P.\*

\* Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie - Via Romea 14/A 35020 Legnaro (PD);

\*\* Facoltà di M. Veterinaria, Università degli Studi di Padova

**Riassunto** - Dal luglio 1994 al luglio 1997 sono state valutate con cadenza mensile le emissioni di coccidi e di uova di elminti in una popolazione di Camoscio alpino *Rupicapra rupicapra*. La popolazione, all'inizio dello studio, presentava densità estremamente elevate e una struttura non ottimale (sex ratio 1:4 e scarsità di animali adulti, soprattutto maschi) ed è migliorata durante il periodo di studio (sex ratio 1:2 nel 1997 e aumento relativo degli adulti). Contemporaneamente vi è stato un notevole calo di densità che è passata da 50 capi per 100 ha nel 1994 a 27 nel 1997. Malgrado la densità di popolazione ospite sia considerata un fattore fondamentale nel favorire la trasmissione di parassiti nelle popolazioni a vita libera, tra i parassiti studiati solo i coccidi hanno mostrato un significativo decremento durante il periodo di studio, mentre quasi tutti gli elminti gastrointestinali hanno mostrato un trend positivo, opposto cioè a quello della densità, statisticamente significativo per strongili, *Nematodirus* e cestodi. Gli autori discutono i risultati ottenuti alla luce dei meccanismi ecologici di regolazione delle popolazioni di parassiti.

**Abstract** - Emission of *Coccidia* oocysts and gastro-intestinal helminth eggs in a declining Alpine chamois *Rupicapra rupicapra* population. *Coccidia* oocysts and helminth egg counts were monthly evaluated in an Alpine chamois population from July 1994 to July 1997. Initially the population had high density (50 animals/100 ha) and had a non-optimal population structure (sex ratio 1:4, and few adults, especially males) which improved during the study period (in 1997: sex ratio 1:2 and relative increase of adults). In the same time, density decreased (27 animals/100 ha). Even though host population density is considered crucial for parasites transmission in free living populations, in this study only coccidia showed a significant negative trend with decreasing population density, while almost all helminths showed an increasing egg emission, significant for strongyles, *Nematodirus* and cestodes. The ecological processes of parasites self-regulation possibly related to the observed pattern, are discussed.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 175 - 183

## 1. Introduzione

La densità di popolazione dell'ospite è considerata uno dei fattori principali in grado di influenzare positivamente la trasmissione di macro e micro parassiti. Ciò sta alla base della possibilità che i parassiti regolino la popolazione ospite (Gulland, 1997). Infatti cariche parassitarie che aumentano con la densità dell'ospite determinano un aumento dell'impatto dei parassiti all'aumentare della densità ospite stessa. Tale evenienza è stata dimostrata in condizioni sperimentali ma non vi sono ancora chiare dimostrazioni empiriche che ciò avvenga anche a livello di popolazioni di animali selvatici a vita libera (Hudson, 1996). D'altro canto se sono noti meccanismi diversi dal parassitismo in grado di regolare le popolazioni ospiti (predazione, competizione, disponibilità alimentari, ecc.), analoghi meccanismi capaci di regolare i parassiti (diversi dalla mortalità dell'ospite) sono relativamente poco studiati da un punto di vista ecologico e di popolazione. Studi sperimentali di alcuni sistemi ospite-parassita a questo riguardo hanno tra l'altro

dato risultati contrastanti e controintuitivi (Hudson & Dobson, 1995).

Questo lavoro segue ad un confronto dell'emissione di uova di elminti gastrointestinali tra due aree ad alta e due a bassa densità di Camosci, di cui sono già stati pubblicati i risultati del primo anno di ricerca (Stancampiano *et al.*, 1998). Poiché una delle popolazioni ad alta densità (quella oggetto del presente lavoro) ha subito nel corso della ricerca un calo demografico, lo studio si è protratto ed è stato ampliato ed approfondito. Ciò ha permesso la valutazione dell'influenza della densità dell'ospite non solo come confronto tra diverse popolazioni ma anche, grazie ad uno studio di tipo longitudinale, a livello di una singola popolazione di Camoscio.

## 2. Metodi

Dal luglio 1994 al luglio 1997 sono stati raccolti, con cadenza mensile, campioni di feci di camoscio alpino presente nella zona di Livinallongo del Col di Lana (BL). I camosci vivono in un'area di circa 500 ha, ed all'inizio dello studio presentavano densità piuttosto ele-

vate, dell'ordine di 50 capi per 100 ha.

Nel corso dei tre anni di studio la popolazione ha subito un notevole calo demografico ed un riaggiustamento della struttura (tabella 1) con un miglioramento del rapporto tra i sessi ed un aumento relativo di animali adulti. Ciò è accaduto in seguito al prelievo venatorio ed in parte ad episodi di mortalità naturale avvenuti durante l'inverno '96-'97 a causa di patologie dell'apparato respiratorio che hanno determinato, tra l'altro, la morte di circa il 90% dei giovani dell'anno.

Su ciascun campione è stato eseguito un esame coprologico quantitativo ovvero una conta delle uova per grammo di feci (upg) con la tecnica di McMaster (soglia di positività: 20 upg) utilizzando per la flottazione una soluzione a peso specifico 1300.

Dal luglio 1995 è iniziata la valutazione quantitativa anche dei coccidi, con la conta, sempre tramite McMaster, delle oocisti per grammo di feci (opg) con soglia di positività di 50 opg. Per ogni campionamento è stato messo in coltura, in bicromato di potassio al 2.5%, un pool composto da un grammo di feci di ciascun campione, per la sporulazione e la successiva identificazione dei coccidi. Quest'ultima è stata effettuata seguendo le descrizioni di Levine e Ivens (1970). A partire dal campionamento del settembre 1995, giunti ad una identificazione dei coccidi presenti, è stata valutata la percentuale delle diverse specie tramite l'osservazione di 300 oocisti per ciascun pool sporulato; grazie a questo dato e sulla base delle opg medie per ciascun campionamento è stata quindi stimata l'emissione media di ciascuna specie di coccidio.

Al fine di valutare indirettamente l'influenza della variazione di densità dei camosci, le emissioni di uova (upg), di oocisti (opg) e le medie di emissione stimate per ciascuna specie di coccidio sono state correlate con la variabile "data" (anno e mese) di campionamento (test di correlazione non parametrico di Spearman).

Le upg e opg sono state inoltre correlate con le medie di umidità e temperatura mensili rilevate

**Tab. 1** - Consistenza (numero totale di capi) densità (capi per 100 ha) e sex ratio (maschi/femmine) della popolazione di camoscio nei quattro anni di studio.

	1994	1995	1996	1997
consistenza	250	200	150	135
densità	50	40	30	27
sex-ratio	1:4	1:3	1:2	1:2

dal Centro Sperimentale di Arabba nella stazione niveometereologica automatica Monti Alti di Ornella, prossima all'area di studio.

La distribuzione di frequenza delle uova di strongili e delle oocisti è stata confrontata con la distribuzione binomiale negativa tramite il test di Kruskal-Wallis. Poiché i campioni esaminati nel corso dello studio erano di dimensioni diverse, l'indice di aggregazione  $k$  è stato stimato applicando la correzione per la numerosità del campione (Smith *et al.*, 1995) ed è quindi stato correlato con le emissioni e con la data di campionamento tramite il test di correlazione di Spearman.

### 3. Risultati

I mesi in cui è stato possibile effettuare il campionamento ed il numero di campioni esaminati sono riportati in tabella 2.

Gli esami coprologici hanno evidenziato i parassiti riportati in tabella 3. Sono inoltre state riconosciute 4 specie di coccidi denominate specie 1 (piccola), specie 2 (media), specie 3 (grande), specie 4 (enorme). In questo lavoro vengono prese in considerazione solo le prime tre in quanto la specie 4 è stata osservata solo sporadicamente nei campioni esaminati. I risultati relativi alla sistematica di tali specie sono riportati da Cassini (1996-'97) e saranno argomento di un successivo lavoro.

Le correlazioni tra le emissioni di uova e di oocisti e la variabile data sono riportate in tabella 4a. Si può osservare come, a parte una debole correlazione negativa rilevata per *Trichuris* spp, tutti gli elminti abbiano subito tendenzialmente un aumento di emissioni di uova nel tempo, malgrado il calo di densità della popolazione ospite; tale aumento è risultato statisticamente significativo per strongili, *Nematodirus* e cestodi. Solo per i coccidi è stata evidenziata una diminuzione statisticamente significativa dell'emissione di oocisti nel tempo. Nelle fig. 1 e 2 sono visualizzati rispettivamente i valori di upg e opg per data di campionamento.

Gli andamenti delle medie di emissione di coccidi totali e per singola specie sono mostrati in figura 3. Il test di correlazione ha evidenziato coefficienti di correlazione negativi per tutte e tre le specie (rispettivamente  $R=-0.39$ ;  $-0.74$ ;  $-0.13$  per le specie 1, 2, 3), significativi solo per la specie 2 ( $p<0.01$ ). La tabella 4, b-c, mostra le correlazioni tra le emissioni e i parametri ambientali temperatura e umidità.

In tabella 5 sono riportati i risultati del test di correlazione di Spearman tra i diversi parassiti rinvenuti. La maggior parte delle coppie di

**Tab. 2** - Mesi in cui è stata effettuata la raccolta delle feci di camoscio e numerosità di ciascun campione.

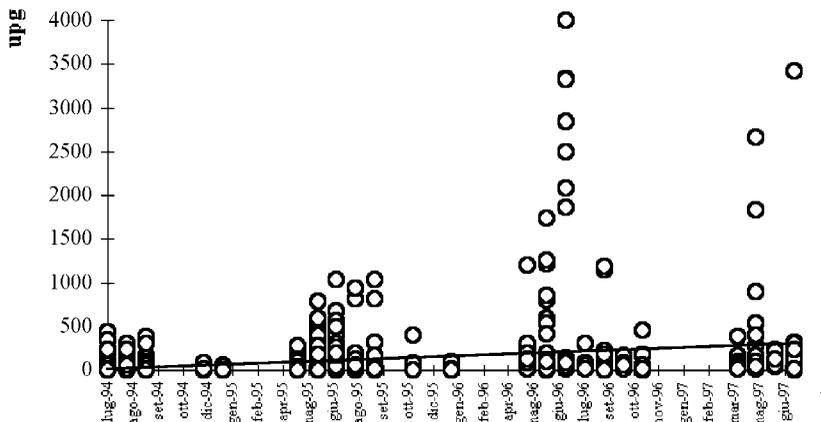
Anno	1994				1995							1996							1997				
me	7	8	9	12	1	5	6	7	8	9	11	1	5	6	7	8	9	10	11	4	5	6	7
N°	22	48	54	29	48	99	75	20	20	15	20	16	20	20	16	20	20	20	16	18	20	9	20

**Tab. 3** - Parassiti rinvenuti agli esami coprologici

	#	m	min	max	s <sup>2</sup>
Strongili	665	128	0	4000	387
Nematodirus	665	1	0	20	3
Marshallagia	665	3	0	60	6
Trichuris	665	1	0	80	5
Capillaria	665	0	0	20	1
Cestodi	665	5	0	900	43
Coccidi	284	6113	0	44900	6901

Legenda:

#= numero di campioni esaminati; m= media; min= minimo; max= massimo; s<sup>2</sup>= varianza.

**Fig. 1** – Valori medi del rapporto Eterofili/Linfociti nelle diverse specie in relazione al tipo di gabbia.

parassiti ha coefficienti di correlazione positivi. La distribuzione di frequenza delle oocisti e delle uova dei diversi parassiti osservati è risultata non differire significativamente dalla binomiale negativa ( $p > 0.05$ ). Il parametro  $k$  della distribuzione binomiale negativa (calcolato per strongili e coccidi) ha mostrato fluttuazioni nel tempo ma non è risultato significativamente correlato ( $p > 0.05$ ) né con la data di campionamento né con le singole medie di emissione.

#### 4. Discussione

I parassiti considerati hanno mostrato andamenti diversi nel tempo, per quanto riguarda la emissione di uova od oocisti. Il fatto che la quasi totalità degli elminti abbia mostrato un trend positivo in relazione alla data di campionamento, particolarmente evidente per gli strongili, mentre i coccidi hanno mostrato un trend negativo è molto probabilmente da met-

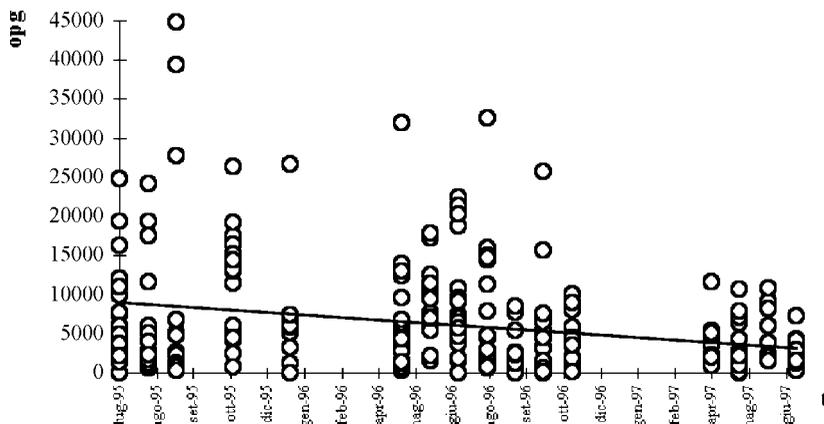


Fig. 2 – Coccidi: andamento dell'emissione di oocisti per grammo di feci nel tempo. E' evidenziata la retta di regressione lineare.

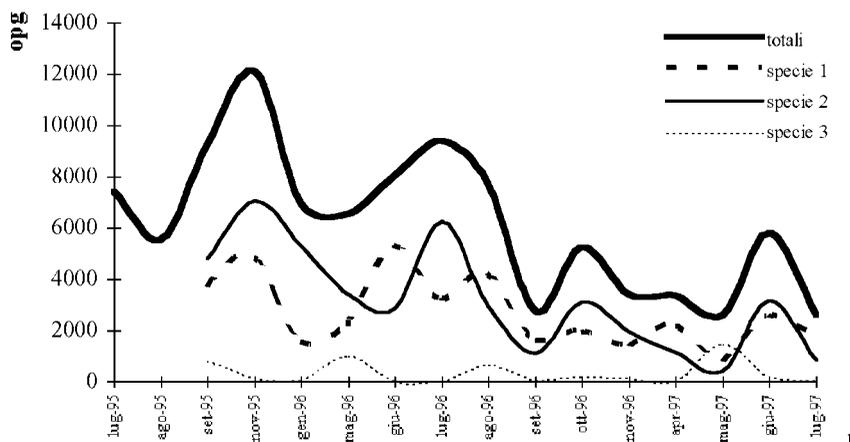


Fig. 3 – Coccidi: andamento delle medie di emissione di oocisti per grammo di feci nel tempo.

tere in relazione alla variazione della densità della popolazione di Camoscio, che è calata nel corso dello studio.

Generalmente una maggior densità degli ospiti viene considerata come un fattore favorevole alla diffusione dei parassiti, aumentando le probabilità di contatto diretto o indiretto tra individui ospiti e quindi le probabilità di nuove infezioni, determinando quindi, in definitiva, una maggiore intensità di infezione (Crofton, 1971; Scott & Dobson, 1989). Tale ipotesi è in accordo con quanto osservato in questo lavoro per i coccidi, che hanno mostrato una diminuzione dell'intensità di emissione di oocisti

parallelamente alla diminuzione di densità degli ospiti. Al contrario ciò non si è verificato per gli elminti, per i quali è stato osservato un aumento dell'intensità di emissione di uova. Anche se non sono a priori escludibili cause diverse, l'ipotesi che sia proprio la densità della popolazione ospite a determinare questo andamento sembra la più plausibile ed è confermata dai risultati di un precedente lavoro effettuato su diverse popolazioni di Camoscio (Stancampiano et al., 1998) nell'ambito del quale sono state osservate emissioni di upg più elevate nelle popolazioni a bassa densità. Numerosi studi hanno dimostrato, attraverso

**Tab. 4** - Correlazioni tra le emissioni di uova/ococisti e le variabili: a) data di campionamento, b) temperatura, c) umidità.

Variabili	R	p	Variabili	R	p	Variabili	R	p
D - Strongili	.37	.00	T-Strongili	.29	.00	U-Strongili	.36	.00
D - Nematodirus	.19	.00	T-Nematodirus	.01	.78	U-Nematodirus	.09	.02
D - Marshallagia	.06	.11	T-Marshallagia	-.34	.00	U-Marshallagia	-.14	.00
D - Trichuris	-.03	.44	T-Trichuris	.09	.02	U-Urichuris	-.04	.33
D - Capillaria	.07	.06	T-Capillaria	.01	.83	U-Capillaria	-.02	.67
D - Cestodi	.09	.02	T-Cestodi	.03	.48	U-Cestodi	.13	.00
D - Coccidi	-.25	.00	T-Coccidi	.13	.03	U-Coccidi	.07	.24
A			B			C		

Legenda: R= coefficiente di correlazione di Spearman; p= livello di significatività; D= data; T= temperatura; U= umidità.

**Tab. 5** - Coefficiente della correlazione per ranghi di Spearman tra i diversi parassiti riscontrati.

	Strongili	Nematodirus	Marshallagia	Trichuris	Capillaria	Cestodi	Coccidi
<u>Strongili</u>	/	.19**	.04	.10**	.09*	.17**	.13*
<u>Nematodirus</u>		/	.10*	.09*	-.02	.29**	.14*
<u>Marshallagia</u>			/	.00	.03	.06	.01
<u>Trichuris</u>				/	.09*	.11**	-.01
<u>Capillaria</u>					/	-.01	-.14*
Cestodi						/	.11
Coccidi							/

Legenda: \*\*: p<0.01; \*: p<0.05.

indagini sul campo, infestazioni sperimentali e applicazioni di modelli matematici, come gli elminti più importanti dei ruminanti domestici, in particolare gli strongili gastrointestinali, vengano regolati a livello di infrapopolazione, cioè nel singolo individuo ospite attraverso meccanismi dipendenti dalla densità dei parassiti stessi e in grado di agire sulla popolazione parassita indipendentemente dalla mortalità dell'ospite (Barger, 1986; Smith, 1988). Essi agiscono *i*) limitando il numero di nuove larve ingerite che riescono ad aderire alla mucosa, *ii*) rallentando o bloccando lo sviluppo di quelle che si sono già insediate (ipobiosi), *iii*) diminuendo la fertilità degli adulti (ciò è stato osservato in particolare per il genere *Ostertagia*) (Michel, 1969; Smith, 1989) o *iv*) causandone la morte o l'espulsione (soprattutto per i generi *Trichostrongylus* e *Haemonchus*) (Barger, 1986). Un ruolo fondamentale sembra essere giocato dalla risposta immunitaria degli ospiti, anche se

possono contribuire reazioni di tipo aspecifico come una semplice risposta infiammatoria. Sicuramente, poi, possono entrare in gioco anche fattori intrinseci alle popolazioni di parassiti, come la competizione per determinate risorse. Questi fattori che, indipendentemente dagli specifici meccanismi in gioco, agiscono a livello di infrapopolazione sembrano, nel nostro caso, produrre i loro effetti anche a livello di soprapopolazione. Il mezzo tramite il quale ciò accade potrebbe essere la carica infettante (numero di larve) assunta da ciascun camoscio; abbiamo visto che maggiori cariche infettanti comportano maggiori meccanismi (immunitari) che in definitiva determinano una infrapopolazione minore (o meno fertile). La carica infettante stessa fungerebbe da informazione per ciascuna infrapopolazione parassita sullo stato delle altre infrapopolazioni cioè, in ultima analisi, sullo stato dell'intera popolazione parassita.

Al contrario di quanto succede per gli elminti, i coccidi non sembrano risentire di meccanismi di regolazione dell'emissione di oocisti a livello di infrapopolazione, quasi che la capacità di sviluppo e riproduzione dipenda direttamente dalla densità degli ospiti. Una maggiore densità di camosci consentirebbe infatti non solo una più alta probabilità di trasmissione, ma anche una maggiore quantità di "risorse trofiche" (gli stessi camosci) disponibili. Anche se per i coccidi è stata dimostrata la presenza di una risposta immunitario-infiammatoria in grado di ridurre il potenziale biotico (Soulsby, 1986), nel caso specifico degli animali a vita libera è probabile che non vengano raggiunte delle cariche infettanti sufficienti a superare l'effetto opposto dovuto alla densità degli ospiti.

L'andamento totale delle emissioni di oocisti rispecchia l'andamento in calo di tutte le tre specie prese in considerazione, anche se con differenti significatività. Solo per la terza specie è ipotizzabile una strategia riproduttiva di tipo K, cioè a basso potenziale riproduttivo, meno dipendente dalla densità degli ospiti.

Fermo restando che quella appena esposta ci sembra essere l'ipotesi più probabile e più fondata, non possiamo escludere che il particolare andamento delle emissioni di uova ed oocisti dei parassiti della popolazione presa in considerazione sia dovuto anche ad altri fattori. Per esempio altre caratteristiche demografiche della popolazione ospite diverse dalla densità, come la struttura ed in particolare la percentuale di giovani, possono aver influenzato la dinamica dei parassiti.

Nei camosci studiati si è assistito ad un riaggiustamento della popolazione con aumento relativo degli adulti. Questo sarebbe compatibile con una diminuzione delle cariche parassitarie e di conseguenza delle emissioni dei coccidi (infestazione tipicamente più intensa negli animali giovani) e con un aumento di cariche ed emissioni degli elminti, per alcuni dei quali è stata dimostrata la tendenza ad accumularsi con il progredire dell'età (Hudson & Dobson, 1995).

Si potrebbe infine ipotizzare che una più bassa densità degli ospiti favorisca una loro migliore condizione e di conseguenza un migliore ambiente per i parassiti e quindi una loro aumentata capacità produttiva e riproduttiva. Questa ipotesi, squisitamente ecologica, non tiene però in debito conto del fattore immunità degli ospiti, che, migliorando assieme alle condizioni dei suoi proprietari sfavorisce le prestazioni dei parassiti, come è stato ad esempio

dimostrato in sistemi ospite-parassita naturali per la fecondità di *Teladorsagia* (Gulland, 1992). Indipendentemente dal motivo che ha causato l'aumento dell'emissione di uova di elminti è opportuno fare un'ulteriore osservazione: i dati disponibili in letteratura, riferiti sia a ruminanti domestici sia a ruminanti selvatici, sono discordi a proposito del significato dell'esame coprologico come indice per la valutazione dell'intensità di infezione da elminti gastrointestinali. Accanto a lavori in cui viene dimostrato un rapporto più o meno diretto tra cariche parassitarie e upg (Coyne *et al.*, 1991; Brian & Kerr, 1989; Donat & Ducos de Lahitte, 1989) ve ne sono altri in cui tale rapporto non viene osservato (Michel, 1969; Madonna & Traldi, 1989), tanto da spingere alcuni Autori a concludere sull'inutilità degli esami coprologici se non come indagine qualitativa (Madonna & Traldi, 1989). Ciò è probabilmente dovuto proprio all'esistenza di meccanismi di densità dipendenti di regolazione della fertilità dei parassiti, oltre al fatto che qualsiasi valutazione puntuale, effettuata in un solo istante, dello stato parassitario è soggetta a numerosissimi "fattori di disturbo" quali l'età (e quindi la maturità) dei parassiti presenti, lo stato immunitario e l'età dell'ospite, la quantità di feci emesse. Qualunque sia la causa della variazione di uova emesse (variazione del numero di parassiti presenti oppure della fertilità) questa riveste comunque in sé un notevole interesse a livello di valutazione dei parametri relativi alla popolazione parassita nel suo complesso. La strategia adottata dagli strongili gastrointestinali cambierebbe, quindi, a seconda delle caratteristiche della popolazione di camoscio intesa come ambiente per i parassiti. In ambienti poco stabili e poco sicuri, quali sarebbero popolazioni di camoscio scarse, i parassiti adotterebbero una *r*-strategia che consiste nell'utilizzare interamente e rapidamente risorse di breve durata grazie ad un elevato potere riproduttivo, mentre in ambienti più stabili e duraturi, quali sarebbero popolazioni di camoscio piuttosto dense, adotterebbero una *K*-strategia, con spostamento delle risorse energetiche dalla riproduzione ad altre attività quali la sopravvivenza o la competizione. L'*r*-strategia sarebbe vantaggiosa nel momento in cui i camosci sono meno abbondanti in quanto bilancerebbe il "rischio di estinzione" dovuto alla carenza di ospiti e quindi alle maggiori difficoltà di trasmissione, mentre rappresenterebbe, in altre situazioni, un inutile spreco di energie (Wilson & Bossert, 1974).

Oltre all'intensità dell'infestazione il rapporto ospite-parassita è fortemente influenzato dal grado di aggregazione dei parassiti nella popolazione ospite. Il parametro  $k$ , inversamente correlato al grado di aggregazione, è uno degli strumenti utilizzati per la sua valutazione.

Alcuni autori (Genchi *et al.*, 1985) hanno suggerito che un'aumentata densità di ospiti determini maggiori intensità di infezione e minor grado di aggregazione dei parassiti, in altre parole che all'aumentare dell'intensità di infezione aumenti il  $k$ . Ciò determinerebbe una destabilizzazione ulteriore del rapporto ospite-parassita in quanto le aumentate intensità andrebbero a distribuirsi in maniera più omogenea, meno aggregata, nella popolazione ospite, con un maggior numero di individui soggetti a cariche parassite prossime a quelle in grado di determinare effetti negativi.

Tale ipotesi non appare confermata nel nostro lavoro. Infatti non sono stati osservati trend correlabili con la densità dei camosci né per i coccidi né per gli strongili. Inoltre il  $k$  non è risultato correlato neppure con i singoli valori di emissioni medie. Quindi se da un lato densità elevate di ospiti sembrano essere in relazione con aumentate intensità di infezione da coccidi, queste non sono accompagnate da una diminuzione dell'aggregazione che fungerebbe da fattore stabilizzante anche in caso di cariche elevate. Ciò sembra confermato dall'assenza, nei camosci studiati, di sintomatologia conclamata riferibile a coccidiosi. D'altro canto per gli strongili gastrointestinali, almeno considerando le emissioni di upg, a densità della popolazione ospite elevate non si affiancano cariche parassite più intense, né meno aggregate.

Sovrapposto al trend a lungo termine è stato osservato almeno per alcuni parassiti un andamento ciclico stagionale correlato alle diverse condizioni di temperatura ed umidità (Tab. 4 b-c). Si conferma quindi l'importanza, nell'ecologia dei parassiti, delle condizioni ambientali accanto a quelle demografiche. Dai risultati ottenuti si può osservare come i vari elminti mettano in atto diverse strategie di adattamento: in particolare si può osservare come, al contrario degli altri strongili, *Marshallagia* sia correlata negativamente con temperatura ed umidità. Ciò è verosimilmente in relazione al tipo di uova di questo parassita ed allo sviluppo dell'embrione fino alla larva infestante  $L_4$  all'interno dell'uovo, analogamente a *Nematodirus* per il quale è stato addirittura dimostrato un effetto di induzione dello sviluppo determinato dalle basse temperature (Soulsby, 1986); il fatto che

un analogo andamento in relazione alle variabili ambientali non sia stato osservato per le uova di quest'ultimo genere è probabilmente in relazione alle basse cariche osservate in questo lavoro (Tab. 3). Al contrario la maggior parte degli altri strongili preferiscono produrre massivamente uova nei periodi di maggior tepore, confidando per il superamento dell'inverno nelle larve ipobiotiche o negli adulti rimasti internamente all'ospite.

Per i coccidi non è stato osservato un chiaro andamento stagionale se non una debole correlazione positiva con la temperatura, probabilmente perché l'ambiente freddo-umido di montagna è particolarmente adatto alla sopravvivenza delle oocisti (Svensson, 1995) che invece risentono soprattutto dei climi molto secchi, come dimostrato da lavori che hanno evidenziato un andamento stagionale in ambienti di pianura o media collina appenninica (Mazzoni della Stella *et al.*, 1996).

Infine le correlazioni riscontrate tra i diversi parassiti, quasi tutte positive (Tab. 5) suggeriscono una predisposizione individuale al parassitismo in senso lato. Ciò è particolarmente evidente per l'associazione tra strongili e coccidi i quali, pur avendo andamenti opposti nel tempo, sono correlati positivamente a livello individuale.

La fenologia dell'emissione di uova ed oocisti è influenzata da tre fattori fondamentali: le caratteristiche della popolazione ospite, nella fattispecie la densità; le variabili ambientali-stagionali (temperatura ed umidità); la predisposizione individuale.

Almeno nelle condizioni della popolazione di Camoscio considerata, in particolare soggetta a gestione venatoria: i) gli elminti gastrointestinali, al contrario dei coccidi, non sarebbero in grado di regolare la popolazione ospite; ciascuna delle due popolazioni (ospite e parassita) sarebbe soggetta a fattori di regolazione in un certo senso indipendenti. ii) le intensità di infezione da strongili, almeno se valutate tramite l'esame coprologico, non forniscono un indice di densità della popolazione ospite; iii) la distribuzione dei parassiti non subisce variazioni che possano indicare squilibri del rapporto ospite-parassita dovuti a variazioni di densità dell'ospite. Non è detto che ciò sia confermato in sistemi ospite-parassita diversi, in particolare qualora la popolazione ospite, non gestita, possa raggiungere davvero densità prossime alla capacità portante del territorio.

In prospettiva sarebbe utile valutare se quanto osservato si ripete in altre popolazioni ospiti in

particolare sarebbe interessante uno studio analogo effettuato su ungulati presenti in aree protette, nel quale una ricerca basata sugli esami coprologici sarebbe particolarmente indicata in quanto non interferisce sulla popolazione oggetto di studio. E' comunque auspicabile che a livello gestionale vengano tenute in considerazione le possibili reazioni dei parassiti (aumento di produzione di uova) ad una diminuzione della densità dell'ospite. Inoltre sono necessari ulteriori studi al fine di verificare se la variazione di emissione di uova è in relazione ad una effettiva diminuzione dell'intensità di infezione, ad una semplice diminuzione di fertilità o ad entrambi.

### 5. Ringraziamenti

Si ringraziano tutti coloro che hanno partecipato alla realizzazione di questo lavoro. Un ringraziamento speciale va però alla Provincia di Belluno e in particolare alle guardie che hanno fiduciosamente raccolto campioni per i tre lunghi anni di analisi; a Vittorio Guberti per i suoi preziosi consigli, le altrettanto preziose critiche ed il contributo nell'ideazione della ricerca; ad Andrea Ponzoni per le estenuanti ed interessanti discussioni statistiche; ad Antonia Ricci ed Enrico Foglia per la pazienza e competenza dimostrata nella rilettura del testo e per il supporto linguistico.

### Bibliografia

BARGER I.A. (1986) - Population regulation in Trichostrongylids of ruminants. *International Journal for Parasitology*, 17: 531-540.

BRIAN R.P. & KERR J.D. (1989) - The relation between the natural worm burden of steers and the fecal egg count differentiated to species. *Veterinary Parasitology*, 30: 327-334.

CASSINI R. (1996-1997) - Studio della comunità di coccidi e dinamica del rapporto ospite-parassita in una popolazione di Camoscio alpino (*Rupicapra rupicapra rupicapra*). *Tesi di laurea, Università degli studi di Padova*.

COYNE M.J., SMITH G. & JOHNSTONE C. (1991) - Fecundity of gastrointestinal trichostrongylid nematodes of sheep in the field. *American Journal of Veterinary Research*, 52: 1182-1188.

CROFTON H.D. (1971) - A model of host-parasite relationships. *Parasitology*, 63: 343-364.

DONAT F. & DUCOS DE LAHITTE J. (1989) - Contribution a l'étude des helminthes de l'Isard (*Rupicapra pyrenaica pyrenaica*) suivi épidémiologique de deux populations dans le Massif Roc Blanc-Carlit. *Gibier Faune Sauvage* 6: 383-402.

GENCHI C., BOSSI A. & MANFREDI M.T. (1985) - Gastrointestinal nematode infections in wild ruminants *Rupicapra rupicapra* and *Dama dama*: influence of density and cohabitation with domestic rumi-

nants. *Parassitologia*, 27: 211-223.

GULLAND F.M.D. (1992) - The role of nematode parasites in Soay sheep (*Ovis aries L.*) mortality during a population crash. *Parasitology*, 105: 493-503.

GULLAND F.M.D. (1997) - The impact of parasites on wild animal populations. *Parassitologia*, 39: 287-291.

HUDSON P. (1996) - Interactions between macroparasites and wild animal populations. In: Spagnesi M., V. Guberti, M.A. De Marco (Eds.), *Atti del Convegno Nazionale: Ecopatologia della Fauna Selvatica, Suppl. Ric. Biol. Selvaggina*, XXIV: 5-16.

HUDSON P.J. & DOBSON A.P. (1995) - Macroparasites: observed patterns in naturally fluctuating animal populations. In: Grenfell B.T. & Dobson A.P. (Eds.), *Ecology of infectious diseases in natural populations*. Cambridge University Press, Cambridge.

LEVINE N.D. & IVENS V. (1970) - *The Coccidian Parasites (Protozoa, Sporozoa) of Ruminants*. University of Illinois Press, Chicago.

MADONNA M. & TRALDI G. (1989) - Efficacia degli esami copromicroscopici nei ruminanti domestici e selvatici. *Atti della Società Italiana delle Scienze Veterinarie*, 43:1209-1211.

MAZZONI DELLA STELLA R., TROCCHI V., FARNETANI M., BURRINI L. & GUBERTI V. (1996) - Ciclo annuale della emissione di oocisti e uova di parassiti gastro-intestinali della Lepre comune (*Lepus europaeus*). In: Spagnesi M., Guberti V. & De Marco M.A. (Eds.), *Atti del Convegno Nazionale: Ecopatologia della Fauna Selvatica, Suppl. Ric. Biol. Selvaggina*, XXIV: 163-171.

MICHEL J.F. (1969) - Observations on the faecal egg count of calves naturally infected with *Ostertagia ostertagi*. *Parasitology*, 59:829-835.

SCOTT M.E. & DOBSON A. (1989) - The role of parasites in regulating host abundance. *Parasitology Today*, 5: 176-183.

SMITH G. (1988) - The population biology of the parasitic stages of *Haemonchus contortus*. *Parasitology*, 96: 185-195.

SMITH G. (1989) - Population Biology of the parasitic phase of *Ostertagia Circumcincta*. *International Journal for Parasitology*, 19: 385-393.

SMITH G., BASAÑEZ M.G., DIETZ K., GEMMELL M.A., GRENFELL B.T., GULLAND F.M.D., HUDSON P.J., KENNEDY C.R., LLOYD S., MEDLEY G., NÄSELL I., RANDOLPH S.E., ROBERTS M.G., SHAW D.J. & WOOLHOUSE M.E. (1995) - Macroparasite group report: problems in modelling the dynamics of macroparasitic systems. In: Grenfell B.T. & Dobson A.P. (Eds.), *Ecology of infectious diseases in natural populations*. Cambridge University Press, Cambridge.

SOULSBY E.J.L. (1986) - *Helminth, arthropods and protozoa of domesticated animals*. Baillière Tindall, Londra.

STANCAMPIANO L., CAPELLI G. & SOMMAVILLA G. (1998) - Influenza della densità di popolazione sull'emissione di uova di elminti gastrointestinali in quattro popolazioni di Camoscio (*Rupicapra rupicapra*). *Atti del Convegno Nazionale Problematiche veterinarie emergenti nelle aree protette*. Teramo, 19-20 ottobre 1995. pp. 118-122.

SVESSON C. (1995) - Survival of oocysts of *Eimeria*

*alabamensis* on pasture under different climatic condition in Sweden. *Acta veterinaria Scandinavica*, 36: 9-20.

WILSON E.O. & BOSSERT W.H. (1974) - *Introduzione alla biologia delle popolazioni*. Piccin Editore, Padova.



# NEMATODI BRONCOPOLMONARI IN CINGHIALI DELLA PROVINCIA DI NUORO

Biddau M.\*, Cherchi M.\*, Cabras P.A.°, Messina G.°, Deiana A.M.°, Garippa G.\*

\* Dipartimento Biologia Animale, Cattedra di Malattie Parassitarie - Università di Sassari - Via Vienna 2 - 07100 Sassari

° Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Centro territoriale Tortolì, Via Aresu, 4 - 08048 Tortolì Nuoro

**Riassunto** - È stata condotta un'indagine sull'elmintofauna broncopolmonare di 110 cinghiali (*Sus scrofa*) abbattuti in Provincia di Nuoro durante la stagione venatoria 1996/97. Sono risultati infestati il 91,82% (n° 101) dei cinghiali esaminati, con cariche comprese fra 0 e 1943 parassiti. Complessivamente sono state identificate quattro delle cinque specie elmintiche segnalate in Italia: *Metastrongylus pudendotectus*, *M. salmi*, *M. apri* e *M. confusus*. Maggiormente diffusi sono risultati *M. salmi* (P = 81,82%) e *M. pudendotectus* (P = 80%), inferiori le prevalenze di *M. apri* (50,91%) e *M. confusus* (46,36%). Per *M. salmi*, *M. apri* e *M. confusus* si tratta della prima segnalazione in Sardegna.

**Abstract** - **Lung-worms in wild boars from the Nuoro Province.** A total of 110 wild boars *Sus scrofa*, hunted in the Province of Nuoro during the hunting season 1996/97, were examined for lungworms. Wild boars resulted infected in 91.82% of cases and the worm burdens range from 0 to 1943. Altogether 4 out of 5 species recorded in Italy were identified: *Metastrongylus pudendotectus*, *M. salmi*, *M. apri* and *M. confusus*. The highest prevalence were found for *M. salmi* (P = 81.82%) and *M. pudendotectus* (P = 80%). Lower prevalence were found in *M. apri* (50.91%) and *M. confusus* (46.36%). This is the first record in Sardinia of *M. salmi*, *M. apri* and *M. confusus*.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 185 - 187

## 1. Introduzione

Una precedente indagine aveva evidenziato, seppur con alcune differenze, una notevole similarità fra la fauna parassitaria del cinghiale della Sardegna e di quello del centro Italia (Garippa *et al.*, 1994). Tuttavia veniva segnalata esclusivamente la presenza di *Metastrongylus pudendotectus*, a differenza di quanto osservato nell'Italia peninsulare e in Europa, dove, oltre a *M. pudendotectus*, sono costantemente segnalati *M. apri*, *M. salmi*, *M. confusus* e *M. asimmetricus* (Macchioni & Marconcini, 1980, Macchioni *et al.* 1988, Manfredi *et al.* 1996, Hollo, 1965 a, 1965b; Humbert & Henry, 1989; Jansen, 1964). Pertanto si è ritenuto opportuno studiare dal punto di vista qualitativo l'elmintofauna broncopolmonare del cinghiale in Sardegna per valutarne la sua eventuale peculiarità.

## 2. Materiali e Metodi

Sono stati esaminati gli apparati respiratori di 110 cinghiali, 51 maschi e 59 femmine di età compresa fra 6 mesi e 8 anni, abbattuti durante la stagione venatoria 1996-97 in provincia di Nuoro (Barbagia, Ogliastra e Baronia). Per la ricerca dei parassiti, i bronchi, dopo essere stati riempiti con acqua, venivano aperti fino alle più fini diramazioni e ripetutamente lavati. Infine l'acqua di lavaggio veniva filtrata in setacci a maglie tarate da 150  $\mu$  per facilitarne

la raccolta dei parassiti. I nematodi repertati, previa fissazione e chiarificazione, sono stati identificati sulla base delle chiavi morfometriche specifiche (Drozdz, 1987; Jansen, 1964; Hollo, 1965a e b).

Delle specie elmintiche riscontrate sono stati calcolati: prevalenza, abbondanza, deviazione standard e range di intensità (Margolis *et al.*, 1982). Sono stati inoltre elaborati l'Indice di Importanza (dominanza, codominanza e subordinazione) (Thul *et al.*, 1985), nonché la frequenza relativa, espressa in percentuale, del numero di esemplari di una specie all'interno della popolazione parassitaria.

La composizione della popolazione elmintica è stata messa in relazione all'età e sesso che erano noti per tutti i soggetti ed i dati ottenuti sono stati sottoposti al test del  $\chi^2$ . Si è infine proceduto a valutare percentualmente le infestazioni mono e poli-specifiche.

## 3. Risultati

Dei 110 cinghiali esaminati 102 sono risultati positivi per Metastrongilidi con una Prevalenza del 92,73%, un'abbondanza di 132,95 ed un range compreso tra 0 e 1943 parassiti. Complessivamente sono state identificate le seguenti quattro specie: *Metastrongylus salmi*, *M. pudendotectus*, *M. apri* e *M. confusus*.

Maggiormente diffusi sono risultati *M. salmi* (P = 81,82%) e *M. pudendotectus* (P = 80%)

anche se il secondo presentava valori di abbondanza (84,40) e di frequenza relativa (63,48%) maggiori del primo (A=36,28, F.R.=27,29%). Sempre *M. pudendotectus* mostrava un range di intensità molto più elevato (0-1489) di *M. salmi* (0-408). Inferiori le prevalenze di *M. apri* (P = 50,91%) e *M. confusus* (P = 46,36) che presentavano inoltre valori particolarmente bassi di abbondanza, frequenza relativa e range di intensità. Nella tab. 1 vengono esposti i parametri epidemiologici calcolati, sia per l'intero campione sia in funzione del sesso. Le differenze di prevalenze riscontrate tra soggetti maschi e femmine non risultano significative. Il calcolo dell'indice di importanza ha evidenziato come tutte le specie siano da considerarsi dominanti. (Tab. 1). Stratificando i soggetti in due classi di età (< 2 anni, > 2 anni) non viene riscontrata alcuna differenza significativa per quanto riguarda la prevalenza, mentre gli indici epidemiologici di *M. pudendotectus* e di *M. salmi*, con l'eccezione della frequenza relativa di quest'ultimo, diminuiscono all'aumentare dell'età, a differenza di quanto si osserva per *M. apri*. (Tab. 2). Nella tab. 3 vengono esposti i risultati dell'indagine effettuata sui soli maschi in funzione della classe d'età. Anche in questo caso la prevalenza

dell'infestazione non presenta differenze significative. Nella tabella 4 vengono esposti i principali indici epidemiologici calcolati per le sole femmine in funzione della classe d'età. Non vengono evidenziate alcune differenze significative per quanto riguarda la prevalenza delle varie specie parassite riscontrate.

Da rilevare infine una netta prevalenza delle infestazioni polispecifiche (86,3%) rispetto a quelle monospecifiche (13,7%). In particolare queste ultime erano sostenute esclusivamente da *M. salmi* e *M. pudendotectus*. Fra le polispecifiche maggiormente diffuse quelle sostenute contemporaneamente da 3 (30,4%) e da 4 (31,4%) specie.

#### 4. Discussione

Rispetto a quanto precedentemente evidenziato in Sardegna (Gariippa et al., 1996) l'indagine oltre a confermare la presenza di *M. pudendotectus* ha permesso di rilevare quella di *M. apri*, *M. salmi* e *M. confusus*. Pertanto, con l'eccezione di *M. asymmetricus*, l'elmintofauna broncopolmonare del cinghiale in Sardegna è sovrapponibile con quella dell'Italia centrale (Macchioni et al. 1980, 1988) e della Liguria (Manfredi et al., 1996), nonchè con quella dell'Europa continentale (Hollo, 1965; Humbert & Henry, 1989;

**Tab. 1** - Prevalenza, Abbondanza, Deviazione Standard, Intensità media e frequenza relativa dei soggetti esaminati in totale e in funzione del sesso dei soggetti esaminati

	Prevalenza	Abbondanza	D. S.	Range intensità	Freq. relativa	Indice di Thul
<i>Metastrongylus pudendotectus</i>	80,00 %	84,40	208,03	0-1489	63,48 %	65,39 D
<i>Metastrongylus salmi</i>	81,82 %	36,28	59,88	0-408	27,29 %	28,75 D
<i>Metastrongylus apri</i>	50,91 %	7,84	24,08	0-234	5,89 %	3,86 D
<i>Metastrongylus confusus</i>	46,36 %	4,44	8,28	0-46	3,34 %	1,99 D
Totale	92,73 %	132,95	338,04	0-1943		
Maschi	90,19%	84,78	131,69	0-542		
Femmine	94,91%	174,59	266,05	0-1943		

**Tab. 2** - Prevalenza, Abbondanza, Deviazione Standard, Intensità media e Frequenza relativa dei soggetti esaminati in funzione delle classi d'età

	SOGGETTI DI ETA' < 2 aa					SOGGETTI DI ETA' > 2 aa				
	P	A	m-M	I. M	F. rel	P	A	m-M	I. M	F. rel
<i>M. pudendot.</i>	79.36%	113.75	0-1489	143.32	69.76%	80.85%	45.06	0-405	55.74	48.66%
<i>M. salmi</i>	85.71%	39.38	0-408	45.94	24.15%	76.6%	32.13	0-203	41.94	34.69%
<i>M. apri</i>	46.03%	5.48	0-67	11.9	3.36%	57.45%	11.00	0-234	19.15	11.88%
<i>M. confusus</i>	47.62%	4.44	0-46	9.33	2.73%	44.68%	4.43	0-26	9.9	4.78%

**Tab. 3** - Prevalenza, Abbondanza, Deviazione Standard, Intensità media e frequenza relativa dei soggetti maschi esaminati in funzione delle classi d'età

	MASCHI ETÀ < 2 anni				MASCHI ETÀ > 2 anni			
	P	A	min-max	F. rel	P	A	min-max	F REL
<i>M. pudendotectus</i>	72,41 %	38,03	0-305	52,85 %	77,27 %	43,59	0-405	42,87 %
<i>M. salmi</i>	86,21 %	24,41	0-167	33,92 %	72,73 %	38,09	0-203	37,46 %
<i>M. apri</i>	44,83 %	6,69	0-67	9,30 %	50,00 %	14,82	0-234	14,57 %
<i>M. confusus</i>	34,48 %	2,83	0-38	3,93 %	45,45 %	5,18	0-36	5,10 %

**Tab. 4** - Prevalenza, Abbondanza, Deviazione Standard, Intensità media e frequenza relativa dei soggetti femmina esaminati in funzione delle classi d'età.

	FEMMINE ETÀ < 2 anni				FEMMINE ETÀ > 2 anni			
	P	A	min-max	F. rel	P	A	min-max	F REL
<i>M. pudendotectus</i>	85,29 %	178,32	0-1489	74,07 %	84,00 %	44,36	0-346	54,77 %
<i>M. salmi</i>	85,29 %	52,15	0-408	21,66 %	80,00 %	26,88	0-101	31,76 %
<i>M. apri</i>	47,06 %	4,44	0-23	1,84 %	64,00 %	7,64	0-42	9,03 %
<i>M. confusus</i>	58,82 %	5,82	0-46	2,42 %	44,00 %	3,76	0-26	4,44 %

Jansen, 1964). La prevalenza complessiva è inferiore a quella riscontrata in Liguria (Manfredi et al., 1996) mentre superiori risultano quelle delle singole specie e i valori di Abbondanza, Range di Intensità e, almeno per *M. pudendotectus*, anche di Frequenza Relativa. Superiori risultano, invece, le prevalenze complessive e quelle delle singole specie dei metastrongili nei cinghiali della Sardegna rispetto a quelle rilevate in Italia centrale (Macchioni et al., 1988). Indagini in via di completamento permetteranno di chiarire eventuali interazioni fra i metastrongilidi dei cinghiali e quelli di suini domestici conviventi.

### 5. Ringraziamenti

Gli Autori ringraziano per la collaborazione i Sig.ri: Giuseppe Cidda, Giacinto Usai e Pietro Melis.

### Bibliografia

DROZDZ J., ZALEWSKA-SCHONTHALER N. (1987) - *Metastrongylus confusus* Jansen, 1964 - nowy dla Polski nicien plukny dzikow. *Adomosci Parazytologiczne*, 33(2)

HOLLO F. (1965a) - Investigations on Metastrongylosis in Swine: I. Frequency of metastrongylosis and species causing it in Hungary. *Acta Veterinaria Hungarica*, 15 (1): 45-60.

HOLLO F. (1965b) - Investigations on Metastrongylosis in Swine - Some remarks to the morphology of *Metastrongylus salmi* (Gedoelst, 1923), with special reference to its differentiation from *M. apri*. *Acta Veterinaria Hungarica*, 15 (3): , 230-257.

HUMBERT J., HENRY C. (1989) - Studies on the prevalence and transmission of lung and stomach nematodes of the wild boar (*Sus scrofa*) in France. *Journal of Wildlife Disease*, 25 (3): 335-341.

GARIPPA G., SCALA A., BAZZONI G., ARRU E. (1996) - Aspetti epidemiologici ed anatomo istopatologici delle principali parassitosi di *Sus scrofa meridionalis* in Sardegna. *Suppl. Ric. Biol. Selvaggina*, 24: 131-136.

JANSEN J. (1964) - On the lungworms of the wild boar (*Sus scrofa* L.) in the Netherlands, with a description of *Metastrongylus confusus* n. sp. *Tijdschr Diergeneesk* 89 (17): 1205-1211.

MACCHIONI G., MARCONCINI A. (1980) - I metastrongili del suino in Italia con particolare riferimento a *Metastrongylus asymmetricus* (Noda, 1973). *Parassitologia*, 32 (13):, 328.

MACCHIONI G., MARCONCINI A., POGLAYEN G., CAPELLI G., AGRIMI U., RAVAIOLI C. (1988) - Diffusione dei metastrongili nel cinghiale (*Sus scrofa*) in Italia centrale. *Parassitol.*, 30 (suppl. 1): 109-110.

MANFREDI M.T., DINI V., GANDUGLIA S. (1996) - Nematodi broncopolmonari in cinghiali provenienti dall'entroterra ligure: diffusione e struttura della comunità elmintica. *Suppl. Ric. Biol. Selvaggina*, 24: 119-126.

MARGOLIS L., ESCH G.W., HOLMES J.C., KURIS A.M., SCHAD G.A. (1982) - The use of ecological terms in parasitology (report of an ad hoc committee of America Society of Parasitologist). *J. Parasitol.*, 68 (1): 131-133.

THUL E.J., FORRESTER D.J., ABERCROMBIE C.L. (1984) - Ecology of parasitic helminths of wood ducks, (*Aix sponsa*), in the Atlantic Flyway. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.*, 52 (2): 297-310.



# ENDO ED ECTOPARASSITI DI *CERVUS ELAPHUS CORSICANUS* DELLA SARDEGNA

Garippa G., Biddau M., Cherchi M.

Dipartimento Biologia Animale, Cattedra di Malattie Parassitarie - Università di Sassari - Via Vienna 2 - 07100 Sassari

**Riassunto** - In considerazione dell'assenza di dati sulle parassitosi di *Cervus elaphus corsicanus* allo stato libero, si è ritenuto opportuno dare un primo parziale contributo alla conoscenza della sua parassitofauna. A tal fine vengono elencate le specie parassitarie repertate in 3 cervi vittime del bracconaggio nella zona di Arbus (Oristano). Cute: *Rhipicephalus bursa*, *Dermacentor marginatus*, *Hyalomma detritum*; polmoni: *Dictyocaulus eckerti*; abomaso: *Spiculopteragia asimmetrica*; grosso intestino: *Oesophagostomum venulosum*, *Trichuris* spp.

**Abstract** - Ecto and endo-parasites of *Cervus elaphus corsicanus* in Sardinia. Considering that there is no data on parasite infections in free-ranging *Cervus elaphus corsicanus*, authors give here a first partial contribution to the knowledge about its parasites. For this purpose a list of the parasites found in three deer, victims of poaching in the area of Arbus (Oristano), is given. Cutis: *Rhipicephalus bursa*, *Dermacentor marginatus*, *Hyalomma detritum*; lungs: *Dictyocaulus eckerti*; abomasum: *Spiculopteragia asimmetrica*; large intestine: *Oesophagostomum venulosum*, *Trichuris* sp.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 189 - 190

## 1. Introduzione

L'origine di *Cervus elaphus corsicanus* è ancora oggi poco chiara. Ne è comunque certa la presenza in Sardegna fin dal XV-XIV secolo a.C. ed in Corsica dal VI secolo a.C.. Attualmente vive allo stato libero esclusivamente nella nostra isola. Agli inizi del '900 la popolazione del cervo sardo subì una prima regressione demografica e nel 1939 fu vietata la caccia. In pericolo di estinzione negli anni '60-'70, a causa di intensi disboscamenti, degli incendi boschivi, della cresciuta pressione pastorale e del bracconaggio, la sua presenza era relegata a tre aree della Sardegna meridionale: Sulcis, Sarrabus e Arburese. La popolazione del cervide allo stato libero è oggi stimata intorno a 1.400 esemplari. Se numerosi sono le indagini sulle parassitosi delle altre sottospecie (Barth, 1972; Canestri-Trotti *et al.*, 1986; Drozd, 1965; Lanfranchi *et al.*, 1985; Manfredi & Mohamed, 1989; Manfredi & Lanfranchi, 1990; Rossi & Meneguz, 1989; Sironi *et al.*, 1990), inesistenti risultano a tutt'oggi quelle sul cervo sardo. Per colmare questa lacuna già da diverso tempo è in corso un'indagine sulla sua parassitofauna finalizzata all'elaborazione di piani di controllo e di gestione di questo ungulato. Purtroppo l'estrema difficoltà a reperire materiale, ci ha consentito finora di esaminare solo 3 soggetti. In ogni caso pur non potendo trarre nessun tipo di conclusioni, riteniamo comunque non privo di interesse esporre in questa sede i dati in nostro possesso.

## 2. Metodi

L'indagine è stata condotta su 3 cervi provenienti dalla zona di Arbus (Oristano), vittime di atti di bracconaggio, le cui carcasse sono state prontamente recuperate. La ricerca degli ecto ed endoparassiti veniva eseguita secondo le usuali tecniche. Tutti i parassiti repertati sono stati fissati, diafanizzati e classificati sulla base delle specifiche chiavi morfometriche (Barth & Visser Mangen, 1991; Drozd, 1965; Gibbons & Khalil, 1988; Manilla, 1988).

## 3. Risultati

In tutti gli animali sono stati repertati ectoparassiti appartenenti alla famiglia Ixodoidea e precisamente: *Rhipicephalus* sp. (76 ninfe, 5 larve) *R. bursa* (3 maschi e 2 femmine), *Dermacentor marginatus* (4 maschi ed 1 femmina) e *Hyalomma detritum* (1 femmina). Due capi sono risultati positivi per *Dictyocaulus eckerti* (2 maschi, 4 femmine e 1 larva). L'esame dell'abomaso ha permesso di evidenziare in 2 soggetti rispettivamente 397 e 511 *Spiculopteragia asimmetrica*, mentre quello del tenue ha sempre dato esito negativo. Infine da rilevare nel grosso intestino dei 3 cervi esaminati la presenza di uno scarso numero (2-7 esemplari) di *Oesophagostomum venulosum* e di *Trichuris* sp.

## 4. Conclusioni

Vogliamo innanzitutto sottolineare, come accennato in precedenza, che in questa nota ci limitiamo a segnalare le specie parassitarie rin-

venute in *Cervus elaphus corsicanus*. In considerazione dell'assenza di precedenti ricerche in questa sottospecie si tratta evidentemente di prime segnalazioni. Riteniamo opportuno comunque rilevare il riscontro di *S. asimmetrica* in cervi non conviventi con altri ungulati.

Concludendo è evidente da quanto esposto sin'ora che le conoscenze sulle parassitosi del cervo sardo sono molto frammentarie. Causa di ciò è l'estrema difficoltà nel reperimento di materiale in buone condizioni. Infatti, finora, per ragioni diverse, non si è ancora riusciti a creare una sinergia tra tutti coloro che nell'ambito delle proprie competenze si dedicano allo studio di questo selvatico.

Riteniamo comunque che questi dati preliminari siano importanti per dare il via ad uno studio più organico dell'argomento auspicando una fattiva collaborazione degli operatori del settore finalizzata alla protezione di questo endemismo sardo-corso.

### Bibliografia

- BARTH D. & VISSER MAGEN M. (1991) - *Magen-Darmnematoden des Rinde*. Enke Verlag, Stuttgart.
- BARTH D. (1972) - Vorkommen, diagnosis und therapie des mangel-darm-nematodenbefalls bei reh-und rotwild. *Dtsch. Tierarztl. Wschr*, 79: 493-561.
- CANESTRI-TROTTI G., CORRADINI L. & VISCONTI S. (1986) - Indagine preliminare sulla fauna ixodologi-

ca nel Boscone della Mesola (Ferrara). *Ann. Ist. Sup. Sanità*: 22, 481-482.

- DROZDZ J. (1965) - Studies on helminths and helminthiases in *Cervidae*. Revision of the subfamily *Ostertagiinae* Sarwar, 1956 and an attempt to explain the phylogenesis of its representatives. *Acta Paras. Polonica*, 13 (44): 447-481.
- GIBBONS M. & KHALIL L.F. (1988) - A revision of the genus *Dictyocaulus* Railliet e Henry, 1907 (Nematoda: Trichostrongyloidea) with the description of *D. africanus* n.sp. from Africans artiodactylids. *Revue Zool. afr. - J. Afr. Zool.*, 102:151-175.
- LANFRANCHI P., TOLARI F., FORLETTA R., MENEGUZ P.G. & ROSSI L. (1985) - The red deer as reservoir of parasitic and infectious pathogens for cattle. *Ann. Fac. Med. Vet. Torino*, 30: 83-97.
- MANFREDI M.T. & MOHAMED H.A. (1989) - Le elmintiasi broncopolmonari dei ruminanti domestici e selvatici. *Atti S.I.S.Vet.*, 43:1461-1464.
- MANFREDI M. T. & LANFRANCHI P. (1990) - Elminti broncopolmonari in ruminanti domestici e selvatici. *Parassitol.*, 32 (Suppl. 1): 175-176.
- MANILLA G. (1988) - *Acari Ixodida*. Edizioni Calderoni, Bologna.
- ROSSI L. & MENEGUZ P.G. (1989) - Fauna ixodologica in ruminanti selvatici del Piemonte. *Ann. Fac. Med. Vet. Torino*, 33: 335-345.
- SIRONI G., RIZZOLI A.P., MANDELLI G. & MANFREDI M.T. (1990) - Bronco-polmonite verminosa nei ruminanti selvatici della Valle di Fiemme: rilievi anatomo-patologici e parassitologici. *Atti S.I.S.Vet.*, 44:983-986.

# SPECIE-SPECIFICITA' DEI NEMATODI ABOMASALI IN RUMINANTI SELVATICI ALPINI

Zaffaroni E., Manfredi M. T., Lanfranchi P.\*

Istituto di Patologia Generale Veterinaria, Università degli Studi di Milano - Via Celoria 10, 20133 Milano, Italia

\* Email: paolo.lanfranchi@unimi.it

**Riassunto** - Al fine di indagare sulla specie-specificità dei nematodi abomasali sono stati analizzati i dati parassitologici di 641 ruminanti selvatici di cinque specie diverse (*Cervus elaphus*, *Capreolus capreolus*, *Rupicapra rupicapra*, *Capra ibex*, *Ovis musimon*) e di 19 ovini domestici (*Ovis aries*) provenienti da areali alpini. Nove delle 20 specie elmintiche totali sono state osservate in almeno 5 diverse specie ospiti. Attraverso un'analisi discriminante è stato possibile discriminare gli ospiti sulla base della composizione delle comunità parassitarie, con l'unica eccezione di *O. aries* e *O. musimon*. Le diverse specie elmintiche, in base alla loro correlazione con i due principali assi discriminanti, sono state classificate in specialiste e generaliste. Le prime sono presenti come specie dominanti nelle comunità di una specie o famiglia di ospiti mentre le seconde compaiono come specie intermedie nelle comunità di diversi ospiti anche di famiglie diverse. Le specie generaliste, per la patogenicità di alcune di esse (es. *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus axei*) e per la loro notevole adattabilità ad ospiti differenti, sembrano essere le più importanti da un punto di vista sanitario.

**Abstract** - **Host-specificity of abomasal helminth in alpine wild ruminants.** Parasitological data from 641 alpine wild ruminants of five different species (*Cervus elaphus*, *Capreolus capreolus*, *Rupicapra rupicapra*, *Capra ibex*, *Ovis musimon*) and from 19 domestic sheep *Ovis aries* from an alpine area were examined in order to investigate the host-specificity of abomasal helminths. Nine out of twenty helminth species were found in at least five different host species. A discriminant analysis was able to significantly discriminate the hosts on the basis of their helminth community composition with the exception of *O. musimon* and *O. aries*. Based on the correlation between each variable represented by helminth species with the most explanatory discriminant axis, it was possible to classify helminths into specialists and generalists. Specialists are represented by the dominant species in a community of a host species or family while generalists appears in the communities of many different hosts as intermediate species. Due to the pathogenic potential of some of them (i.e. *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus axei*) and to their easy adaptability in many different hosts, generalist species appear to be the most important from a sanitary point of view.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 191 - 197

## 1. Introduzione

L'aumento dei ruminanti selvatici presenti sulle Alpi registrato negli ultimi anni ha fatto emergere nuove problematiche sul piano gestionale e sanitario. Uno degli aspetti sicuramente più controversi è legato al ruolo delle diverse specie ospiti, selvatiche e domestiche, nel mantenimento e nella trasmissione di agenti patogeni. Per quanto riguarda gli elminti dei ruminanti è ormai ampiamente accettato il fatto che numerose specie possano colonizzare ospiti differenti e come sia di fatto frequente l'interscambio di parassiti tra popolazioni ospiti di specie diverse (Balbo *et al.*, 1978; Genchi *et al.*, 1984; Lanfranchi *et al.*, 1991; Zaffaroni *et al.*, 1996). Non esiste peraltro uniformità di vedute sulla reale ricaduta sanitaria di questi fenomeni di interazione. Restando nell'ambito alpino, in alcuni casi è stato ipotizzato un rischio sanitario per una delle specie ospiti (Lanfranchi *et al.*, 1991) o sono stati osservati effetti negativi dei parassiti sugli ospiti in situazione di notevole

promiscuità tra ovini domestici e ruminanti selvatici (Zaffaroni *et al.*, 1997), mentre in altre situazioni non è stato osservato alcun effetto patogeno (Rossi *et al.*, 1997). Sebbene sul piano pratico sia generalmente difficile mettere in relazione la presenza di parassiti con eventuali effetti sullo stato sanitario di animali a vita libera, va comunque considerato come numerosi studi teorici indichino come tali effetti possano rientrare tra i principali meccanismi regolatori delle popolazioni animali (Gulland, 1995; McCallum & Dobson, 1995). La capacità dei diversi nematodi parassiti di colonizzare una o più specie ospiti rappresenta quindi un aspetto di notevole importanza. Dal punto di vista sanitario è infatti necessario conoscere quali specie parassitarie siano più facilmente soggette a trasmissione interspecifica, e tra quali specie ospiti, per poter valutare con maggiore precisione l'esistenza di rischi sanitari in situazioni di simpatia tra le diverse popolazioni ospiti o nel caso di movimentazione di animali.

Lo scopo di questo lavoro è quello di valutare il grado di specie-specificità d'ospite dei nematodi abomasali presenti nei ruminanti selvatici a vita libera sulle Alpi, per poter stabilire quali siano più facilmente soggetti a trasmissione interspecifica e quali, al contrario, siano fortemente specie-specifici per un ospite o un gruppo di ospiti.

## 2. Materiali e metodi

Per questa indagine sono stati utilizzati set di dati parassitologici relativi a ruminanti selvatici alpini raccolti ed archiviati dal 1982 presso l'Istituto di Patologia Generale Veterinaria dell'Università degli Studi di Milano.

Nel complesso sono stati utilizzati i dati relativi ai parassiti abomasali di 641 soggetti appartenenti a 5 specie diverse, abbattuti o rinvenuti morti in diverse stagioni dell'anno (*Cervus elaphus*, n=76; *Capreolus capreolus*, n=280; *Rupicapra rupicapra*, n=101; *Capra ibex ibex*, n=155; *Ovis musimon*, n=29). A questi dati sono stati aggiunti per completezza i dati relativi a 19 pecore (*Ovis aries*). I soggetti provenivano da diversi siti alpini compresi tra le Alpi Centrali (Valtellina ed Engadina) e le Alpi Orientali (Altopiano di Asiago, Dolomiti trentine). La ricerca di parassiti è stata condotta mediante le convenzionali tecniche di filtrazione, come descritto in MAFF (1986). Le identificazioni degli esemplari di sesso maschile si sono basate sulle chiavi morfologiche di Skryabin et al. (1961), Drózd (1965), Durette-Desset (1979), Durette-Desset (1982), Biocca et al. (1982), Cabaret et al. (1986). È stata adottata la nomenclatura proposta da Durette-Desset (1989). Per l'analisi dei dati le morfologie alternative di *Teladorsagia circumcincta*, *Marshallagia marshalli*, *Ostertagia leptospicularis* e *Spiculoptera spiculoptera* (rispettivamente *T. trifurcata* (Suarez & Cabaret, 1992), *M. occidentalis* (Lichtenfels & Piliitt, 1989), *Ostertagia kolchida* (Lancaster et al., 1983) e *Rinadia mathevossiani* (Drózd & Lachowicz, 1987) sono state considerate come specie a sé stanti. Per ogni specie elmintica in ogni specie ospite sono stati calcolati gli indici epidemiologici di abbondanza e prevalenza (Bush et al., 1997). È stato inoltre calcolato l'indice di importanza (Thul et al., 1985) delle singole specie elmintiche nella comunità parassitaria di ogni ospite. Il test di Spearman è stato utilizzato per verificare la presenza di correlazione tra numerosità del campionamento di ogni specie ospite ed il numero di specie elmintiche rinvenute. Per valutare la possibilità di dividere le diverse spe-

cie ospiti in base alla composizione delle rispettive comunità elmintiche e la specie-specificità di ogni specie parassitaria nei confronti dei diversi ospiti è stata usata un'analisi discriminante ponendo la specie ospite come criterio di classificazione e, previa trasformazione logaritmica ( $\log(x+1)$ ), utilizzando le variabili rappresentate dalle diverse specie parassitarie. Le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando le macro xLStat 2.0c per Microsoft Excel.

## 3. Risultati

Nel complesso sono state identificate 20 diverse specie elmintiche. Gli indici epidemiologici calcolati per ogni specie parassitaria in ogni ospite sono riportati in tab. 1. Nel Capriolo e nello Stambecco sono state rinvenute il maggior numero di specie parassitarie (16), nel Cervo il numero minore (6). Il numero di specie elmintiche osservato in ogni ospite appare comunque direttamente correlato alla numerosità del campionamento (Spearman  $r=0.81$ ,  $p<0.05$ ). In ogni ospite una o due specie parassitarie mostrano indici epidemiologici e di importanza nettamente superiori alle altre. Raggruppando gli ospiti a livello di famiglia zoologica, le specie "dominanti" sono *Spiculoptera spiculoptera* e *Ostertagia leptospicularis* per i Cervidi e *Teladorsagia circumcincta* e *Marshallagia marshalli* per i Bovidi. In ogni ospite sono inoltre presenti 5-8 specie elmintiche con valori di prevalenza compresi tra 10 e 69% ma con indici di importanza decisamente inferiori alle prime e che possono quindi essere considerate come specie "intermedie". Infine le restanti presentano indici epidemiologici e di importanza estremamente bassi e vanno quindi considerate come specie "rare", le cui probabilità di riscontro sembrano essere direttamente proporzionali all'intensità del campionamento. Nessuna delle 20 specie elmintiche è stata osservata in tutte le specie ospiti, tuttavia 9 di queste sono state rinvenute in 5 ospiti differenti e 3 sole specie sono state osservate in un solo ospite. L'analisi discriminante ha permesso di classificare correttamente il 71.36% dei soggetti esaminati sulla base delle loro comunità elmintiche e ha messo in evidenza come il 90% della variabilità osservata possa essere spiegato dalle prime due funzioni discriminanti (Tab. 2). I gruppi rappresentati dalle diverse specie ospiti sono inoltre risultati significativamente separati fra loro, ad eccezione di *O. aries* e *O. musimon*. Ponendo in forma grafica le coordinate di ogni singolo soggetto in relazione agli assi che rappresentano le due funzioni principali (Fig. 1),

**Tab. 1** - Indici epidemiologici di prevalenza (p), abbondanza (a) e indice di importanza (I) delle specie elmintiche rinvenute nel campione esaminato. Sono evidenziate in grassetto le specie dominanti.

	<i>C. capreolus</i> (N=280)			<i>C. elaphus</i> (N=76)			<i>O. aries</i> (N=19)		
	p	a	I	p	a	I	p	a	I
<i>Spiculoptera spiculoptera</i>	<b>85</b>	<b>189,3</b>	<b>37,800</b>	<b>70</b>	<b>66,9</b>	<b>94,770</b>			
<i>Ostertagia leptospicularis</i>	<b>86</b>	<b>223,4</b>	<b>45,177</b>	34	5,4	3,765			
<i>Rinadia mathevossiani</i>	28	7,3	0,478	17	2,6	0,900			
<i>Ostertagia kolchida</i>	69	71,5	11,514	13	2,0	0,538			
<i>Teladorsagia circumcincta</i>	12	13,0	0,372				<b>74</b>	<b>244,5</b>	<b>72,698</b>
<i>Teladorsagia trifurcata</i>	3	2,2	0,017				47	13,6	2,595
<i>Teladorsagia pinnata</i>	3	0,5	0,003				37	3,1	0,462
<i>Marshallagia marshalli</i>	1	0,2	0,001				5	11,9	0,253
<i>Marshallagia occidentalis</i>	1	0,1	0,000				5	2,9	0,063
<i>Ostertagia ostertagi</i>	10	6,3	0,152				5	0,1	0,001
<i>Haemonchus contortus</i>	24	43,4	2,440	3	0,2	0,011	47	41,4	7,916
<i>Trichostrongylus axei</i>	29	19,0	1,278	3	0,3	0,018	42	75,9	12,893
<i>Trichostrongylus capricola</i>	25	12,9	0,767						
<i>Trichostrongylus vitrinus</i>	1	0,0	0,000				32	22,8	2,910
<i>Trichostrongylus colubriformis</i>	1	0,0	0,000				16	3,3	0,208
<i>Nematodirus filicollis</i>							5	0,1	0,001
<i>Nematodirus helvetianus</i>									
<i>Nematodirus abnormalis</i>									
<i>Nematodirus davtiani alpinus</i>									
<i>Ostertagia lyrata</i>	1	0,1	0,000						

	<i>O. musimon</i> (N=29)			<i>R. rupicapra</i> (N=101)			<i>C. ibex</i> (N=155)		
	p	a	I	p	a	I	p	a	I
<i>Spiculoptera spiculoptera</i>				8	3,1	0,274			
<i>Ostertagia leptospicularis</i>				12	3,4	0,448	1	0,1	0,000
<i>Rinadia mathevossiani</i>				1	0,1	0,001			
<i>Ostertagia kolchida</i>				3	0,4	0,013			
<i>Teladorsagia circumcincta</i>	<b>100</b>	<b>83,3</b>	<b>90,598</b>	<b>66</b>	<b>67,9</b>	<b>49,737</b>	<b>79</b>	<b>365,7</b>	<b>55,901</b>
<i>Teladorsagia trifurcata</i>	38	3,0	1,237	23	3,7	0,923	25	8,2	0,386
<i>Teladorsagia pinnata</i>	55	7,9	4,759	21	5,0	1,136	32	12,2	0,758
<i>Marshallagia marshalli</i>	24	1,7	0,444	<b>56</b>	<b>66,1</b>	<b>41,154</b>	<b>86</b>	<b>204,2</b>	<b>34,010</b>
<i>Marshallagia occidentalis</i>	3	0,2	0,008	29	12,1	3,847	53	33,4	3,407
<i>Ostertagia ostertagi</i>	7	0,3	0,026				5	1,3	0,012
<i>Haemonchus contortus</i>				18	5,6	1,106	1	0,1	0,000
<i>Trichostrongylus axei</i>	3	0,3	0,012	20	5,1	1,125	33	45,2	2,862
<i>Trichostrongylus capricola</i>	14	1,0	0,155	6	1,1	0,071	17	12,2	0,395
<i>Trichostrongylus vitrinus</i>	14	1,1	0,171	9	1,5	0,143	38	22,0	1,610
<i>Trichostrongylus colubriformis</i>	10	0,7	0,078	2	0,2	0,005	4	16,1	0,120
<i>Nematodirus filicollis</i>	38	6,1	2,503	4	0,4	0,017	9	1,6	0,027
<i>Nematodirus helvetianus</i>							1	6,3	0,016
<i>Nematodirus abnormalis</i>	3	0,3	0,010				17	5,6	0,180
<i>Nematodirus davtiani alpinus</i>							12	14,2	0,318
<i>Ostertagia lyrata</i>									

risulta evidente lungo l'asse 1 una netta distinzione tra Cervidi a sinistra e Bovidi a destra. La funzione rappresentata da tale asse può quindi essere considerata quella che discrimina tra le famiglie di ospiti. Lungo l'asse 2, peraltro molto meno rappresentativo rispetto alla variabilità

osservata, è invece possibile osservare una separazione tra le singole specie ospiti. In fig. 2 sono rappresentate le correlazioni tra le variabili originarie (le singole specie parassite) ed i primi due assi discriminanti. Rispetto al primo asse si possono individuare due grandi gruppi di

specie elmintiche: quelle fortemente correlate all'asse stesso, che quindi contribuiscono fortemente a discriminare tra le famiglie di ospiti, poste agli estremi destro e sinistro, e quelle debolmente correlate, raggruppate verso il centro, dotate di scarso potere discriminante. Al primo gruppo appartengono le specie "dominanti", *S. spiculoptera* e *O. leptospicularis* (ed i loro morfi alternativi *R. mathevossiani* e *S. kolchida*) dal lato dei Cervidi e *M. marshalli* e *T. trifurcata* dal lato dei Bovidi. Per quanto riguarda l'asse 2, discriminante rispetto alla specie ospite, *O. leptospicularis* è risultata più vicina al Capriolo rispetto al Cervo (cfr. Fig. 1) e *M. marshalli* più vicina a Stambecco e Camoscio rispetto a Pecora e Muflone. Tra le specie del secondo gruppo, dotate di scarsa capacità discriminante, va osservato come ve ne siano alcune (*Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus axei* e *Trichostrongylus capricola*) in grado di colonizzare diverse specie ospiti con indici epidemiologici e di importanza che indicano una presenza non sporadica nelle rispettive comunità parassitarie (cfr. Tabella 1).

Le restanti specie del secondo gruppo sono tutte specie di riscontro occasionale e di conseguenza poco importanti nella discriminazione tra i gruppi di ospiti.

#### 4. Discussione

I risultati di questa indagine indicano come le specie elmintiche abomasali dei ruminanti selvatici alpini possano essere divise in due grosse categorie in base alla loro specificità d'ospite: le

"specialiste", molto specifiche per una specie o una famiglia di ospiti e quelle "generaliste", al contrario molto poco selettive nei confronti dell'ospite (Bush & Holmes, 1986). Le prime sono quelle che compaiono come dominanti nelle comunità elmintiche di ben determinate specie o famiglie ospiti, mentre le seconde sono presenti in molti ospiti o famiglie diverse senza però mai diventare dominanti. Va osservato come le "specialiste", qualora riescano a colonizzare ospiti per i quali sono poco adattate, restano nell'ambito delle specie "rare" e, d'altra parte, una tale evenienza indica una sicura interazione tra il loro ospite elettivo e quello occasionalmente colonizzato. Al contrario per le "generaliste" può risultare difficile identificare quale ospite sia il serbatoio principale, ed anzi in qualche caso può essere opportuno considerare come serbatoio il complesso delle diverse specie ospiti presenti.

Cervidi e Bovidi presentano elmintofaune sostanzialmente differenti caratterizzate da specie dominanti molto specifiche. Nell'ambito delle due famiglie inoltre sono presenti delle differenze di elmintofauna relative alle singole specie ospiti, indicando come ogni ospite presenti una comunità elmintica dalla composizione peculiare, come peraltro già osservato a proposito di camosci e mufloni simpatrici (Rossi et al., 1996). Per quanto riguarda i cervidi *O. leptospicularis* sembra essere adattata prevalentemente al Capriolo mentre *S. spiculoptera* figura come dominante in entrambe i cervidi esaminati. Riguardo ai Bovidi *T. circumcincta* è la specie

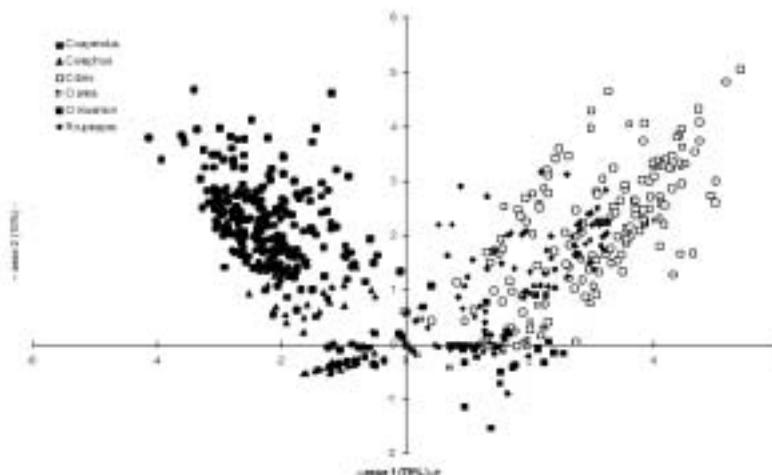


Fig. 1 – Rappresentazione grafica delle coordinate di ogni singolo soggetto rispetto ai primi due assi discriminanti

**Tab. 2** - Risultati dell'analisi discriminante condotta utilizzando la specie ospite come criterio di classificazione e le variabili rappresentate dalle specie elmintiche: statistiche riassuntive delle funzioni discriminanti, riclassificazione dei casi in base ai risultati dell'analisi, e livello di significatività delle distanze fra gruppi.

Autovalori	1	2	3	4	5
Valore	4.5054	0.5928	0.2934	0.1818	0.1017
Variabilità %	80%	10%	5%	3%	2%
Var. cumulativa	80%	90%	95%	98%	100%

Wilks' Lambda: 0.0677      p=0.0001

	da <i>C.capreolus</i>	da <i>R.rupicapra</i>	da <i>C.elaphus</i>	da <i>C.ibex</i>	da <i>O.musimon</i>	da <i>O.aries</i>	Somma
<i>C.capreolus</i>	233	3	11	0	0	0	247
<i>R.rupicapra</i>	1	45	1	30	6	0	83
<i>C.elaphus</i>	45	12	64	3	0	2	126
<i>C.ibex</i>	0	16	0	97	0	0	113
<i>O.musimon</i>	0	7	0	12	18	3	40
<i>O.aries</i>	1	18	0	13	5	14	51
Somma	280	101	76	155	29	19	660

Percentuale di casi classificati correttamente: 71.36%

	<i>C.capreolus</i>	<i>R.rupicapra</i>	<i>C.elaphus</i>	<i>C.ibex</i>	<i>O.musimon</i>	<i>O.aries</i>
<i>C.capreolus</i>	1.000	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
<i>R.rupicapra</i>	0.0001	1.000	0.0001	0.0001	0.0001	0.0042
<i>C.elaphus</i>	0.0001	0.0001	1.000	0.0001	0.0001	0.0001
<i>C.ibex</i>	0.0001	0.0001	0.0001	1.000	0.0001	0.0001
<i>O.musimon</i>	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	1.000	0.0585
<i>O.aries</i>	0.0001	0.0042	0.0001	0.0001	0.0585	1.000

dominante in tutti gli ospiti. *M. marshalli* compare come dominante solo in Camoscio e Stambecco cioè gli ospiti meglio adattati all'ambiente alpino. E' in questo caso piuttosto difficile stabilire se *M. marshalli* sia realmente meglio adattata a questi due ospiti oppure se sia legata a particolari condizioni ambientali e climatiche (Suarez & Cabaret, 1991). A favore di questa seconda ipotesi va ricordato come questa specie nello Stambecco venga osservata soprattutto nella stagione fredda (Lanfranchi *et al.*, 1995) e come, in particolari condizioni ambientali anche al di fuori dell'ambiente alpino, possa essere osservata tra le specie principali in Bovidi (Cabaret, 1984) e Cervidi (Karsten *et al.*, 1987). Da un punto di vista più strettamente sanitario sono tuttavia le specie "generaliste" che rivestono il maggiore interesse. Da un lato infatti tra queste sono incluse specie dal riconosciuto potere patogeno quali *H. contortus* e *T. axei* (Soulsby, 1982), dall'altro queste specie sembrano essere in grado di colonizzare con estrema facilità le diverse popolazioni ospiti con cui entrano in contatto. Per quanto riguarda *H. contortus* è stato osservato come questo sia mag-

giormente presente in popolazioni di ruminanti selvatici in aree dove è diffuso il pascolo ovino (Zaffaroni *et al.*, 1996), in particolare dove le condizioni climatiche non sono particolarmente rigide (Rossi *et al.*, 1989). Inoltre, tra le possibili strategie di sopravvivenza di questo nematode durante la stagione sfavorevole osservate nell'ovino (ipobiosi: Capitini *et al.*, 1990) o permanenza degli adulti nell'ospite (Fakae, 1990) non è attualmente noto se e quale di esse possa essere presente in ruminanti alpini durante l'inverno. Va inoltre tenuto presente come le forme preimaginali di questa specie presentino una scarsa resistenza al freddo (Todd *et al.*, 1976; Jasmer *et al.*, 1986; Jasmer *et al.*, 1987). E' quindi ipotizzabile che l'ovino, alla luce anche della tipologia di allevamento che prevede la transumanza di grosse greggi, rappresenti il principale serbatoio di questa specie anche per quanto riguarda l'arco alpino. Per quanto riguarda *T. axei*, e più in generale numerose altre specie appartenenti al genere *Trichostrongylus*, è noto come queste possano essere rinvenute in numerosi ospiti mono e poli-gastrici, uomo compreso (Soulsby, 1982). In

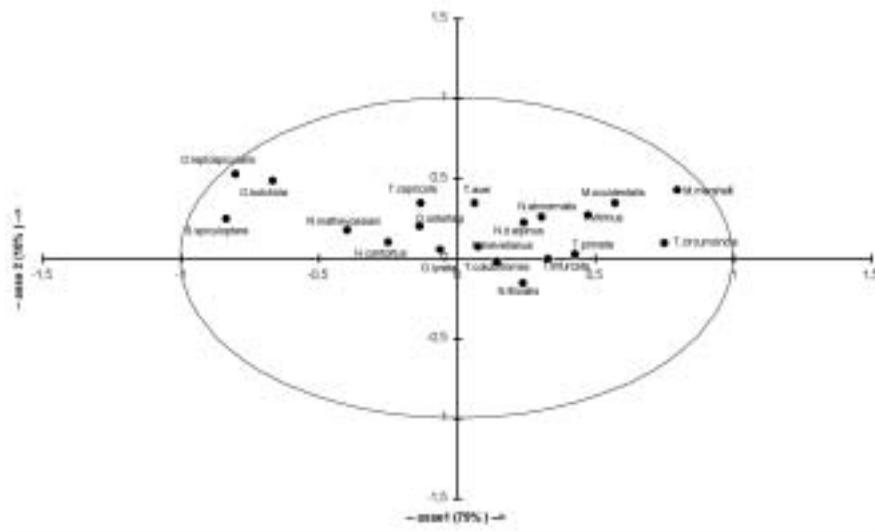


Fig. 2 – Rappresentazione grafica delle correlazioni tra ogni specie elmintica e i primi due assi discriminanti

questo caso è realmente plausibile ipotizzare il mantenimento di queste specie ad opera di un serbatoio “ambientale” composto cioè da tutte le specie recettive presenti in una determinata area. Va comunque osservato come per una più precisa definizione del quadro epidemiologico siano necessari ulteriori approfondimenti a livello microtassonomico sugli isolati nelle diverse specie ospiti. In quest’ottica è stata avviata un’indagine nella specifica realtà alpina sul polimorfismo genetico di *T. circumcincta* nell’ovino (Sironi et al., 1996).

Per concludere è importante ribadire come le specie “specialiste” possano rivestire un certo interesse sanitario prevalentemente come indicatori di interazione tra popolazioni ospiti diverse qualora vengano osservate in ospiti non eletivi, e tale evenienza sembra essere legata essenzialmente agli elevati tassi di trasmissione conseguenti ad elevate densità di popolazione dell’ospite serbatoio. Le “generaliste”, d’altra parte, per la loro potenziale patogenicità e per la facilità nell’adattarsi a ospiti differenti, rappresentano un potenziale rischio sanitario per le popolazioni di ruminanti a vita libera, peraltro di non facile gestione dal punto di vista epidemiologico.

### Bibliografia

BALBO T., COSTANTINI R., LANFRANCHI P. & GALLO M.G. (1978) - Raffronto comparativo della diffusione dei nematodi gastr-intestinali nei ruminanti domestici (*Ovis aries* e *Capra hircus*) e nei ruminanti selvatici (*Capra ibex* e *Rupicapra rupicapra*) delle

Alpi Occidentali. *Parassitologia*, 20: 131-137.

BIOCCA E., BALBO T. & COSTANTINI R. (1982) - Su due nuove specie del genere *Nematodirus* parassiti di stambecchi e camosci: *Nematodirus ibicis* sp. n. e *Nematodirus rupicaprae* sp. n. *Parassitologia*, 24, 129-138.

BUSH A.O., LAFFERTY K.D., LOTZ J.F. & SHOSTAK A.W. (1997) - Parasitology meets ecology in its own terms: Margolis et al. Revisited. *J. Parasitol.*, 83: 575-583.

BUSH A.O. & HOLMES J.C. (1986) - Intestinal helminths of lesser scaup ducks: an interactive community. *Can. J. Zool.*, 64: 142-152.

CABARET J. (1984) - Seasonal changes in the abomasal nematodes of naturally infected ewes in Moulay-Bouazza (Morocco). *Vet. Parasitol.*, 15: 47-56.

CABARET J., MORALES S. & DURETTE-DESSET M.C. (1986) - Caractérisation de *Teladorsagia circumcincta* et *T. trifurcata*. II Aspects morphologiques. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 61: 55-64.

CAPITINI L.A., McCLURE K.E. & HERD R.P. (1990) - Effect of environmental stimuli on pre-infective and infective stages of *Haemonchus contortus* in the Northern United States for the induction of hypobiosis. *Vet. Parasitol.*, 35: 281-293.

DRÓZDZ J. (1965) - Studies on helminths and helminthiases in Cervidae. I. Revision of the subfamily *Ostertaginae* (Sarwar, 1956) and an attempt to explain the phylogenesis of its representatives. *Acta Parasitol. Polonica*, 13: 445-481.

DRÓZDZ J. & LACHOWICZ J. (1987) - Abomasum nematodes in field and forest roe deer *Capreolus capreolus* over the yearly cycle. *Acta Parasitol. Polonica*, 32: 339-348.

DURETTE-DESSET M.C. (1979) - Les Nematodirinae (Nematoda) chez les ruminants et les lagomorphes.

- Ann. Parasitol. Hum. Comp., 54: 313-329.
- DURETTE-DESSET M.C. (1982) - Sur la divisions génériques des Nématodes Ostertaginiinae (Trichostrongylidae). Ann. Parasitol. Hum. Comp., 57: 375-381.
- DURETTE-DESSET M.C. (1989) - Nomenclature proposée pour les espèces décrites dans la sous famille des Ostertaginiinae (Lopez Neyra, 1947). Ann. Parasitol. Hum. Comp., 64: 356-373.
- FAKAE B.B. (1990) - Seasonal changes and hypobiosis in *Haemonchus contortus* infection in the west african dwarf sheep and goats in the Nigerian derived savanna. Vet. Parasitol., 36: 123-130.
- GENCHI C., MANFREDI M.T. & BOSSI A. (1984) - Les infestation naturelle par les strongles digestifs sur les pâturages de haut montagne: interaction entre la chèvre et le chamois. Le Colloques de l'INRA n°28, Paris, Institut National de la Recherche Agronomique, 501-505.
- GULLAND F.M.D. (1995) - The impact of infectious diseases on wild animal populations – a review. In: Grenfell B.T., A.P. Dobson (Eds.). Ecology of infectious diseases in natural populations. Cambridge University Press. 20-51.
- JASMER D.P., WESCOTT R.B. & CRANE J.W. (1986) - Influence of cold temperatures upon development and survival of eggs of Washington isolates of *Haemonchus contortus* and *Ostertagia circumcincta*. Proc. Helminthol. Soc. Washington, 53: 244-247.
- JASMER D.P., WESCOTT R.B. & CRANE J.W. (1987) - Survival of third-stage larvae of Washington isolates of *Haemonchus contortus* and *Ostertagia circumcincta* exposed to cold temperatures. Proc. Helminthol. Soc. Washington, 54: 48-52.
- LANCASTER M.B., HONG C. & MICHEL J.F. (1983) - Polymorphism in Trichostrongylidae. In: E.R. Stone, H.L. Platt & L.F. Khalil (Eds), Concepts in nematode systematics. Academic Press, London, New York, pp. 293-302.
- KARSTEN B., HALVORSEN O. & NILSSEN K. (1987) - Immigration and regional distribution of abomasal nematodes of Svalbard reindeer. J. Biogeog., 14: 451-458.
- LANFRANCHI P., MANFREDI M.T., MADONNA M., TOSI G., BOGGIO SOLA L. & COLOMBI G. (1991) - Significato dell'elmintofauna gastrointestinale nell'analisi delle interazioni Muflone-Camoscio. Suppl. Ric. Biol. Selvaggina, 19: 371-382.
- LANFRANCHI P., MANFREDI M.T., ZAFFARONI E., FRAQUELLI C., RATTI P. & GIACOMETTI M. (1995) - Eine dreijährige Untersuchung der Labmagen-Helminthenfauna beim Alpensteinbock (*Capra i. ibex*) der Kolonie Albris - Graubünden. Schweiz. Zeit. Jagdweis., 41: 24-35.
- LICHTENFELS J.R. & PILITT P.A. (1989) - Cuticular ridge patterns of *Marshallagia marshalli* and *Ostertagia occidentalis* (Nematoda: Trichostrongyloidea) parasitic in ruminants of North America. Proc. Helminthol. Soc. Washington, 56: 173-182.
- MCCALLUM H.I. & DOBSON A.P. (1995) - Detecting disease and parasite threats to endangered species and ecosystems. Tree, 10:190-193.
- MINISTRY OF AGRICULTURE FISHERIES AND FOOD (1986) - Manual of veterinary parasitological laboratory techniques. HMSO, London.
- ROSSI L., DE MENEGHI D., MENEGUZ P.G. & LANFRANCHI P. (1989) - Elmintofauna del camoscio (*Rupicapra rupicapra*) nel Parco Naturale Argentera. Ann. Fac. Med. Vet. Torino, 33.
- ROSSI L., MENEGUZ P.G. & CRESCI M.E. (1996) - La simpatria muflone/camoscio modifica sensibilmente le rispettive comunità elmintiche? Suppl. Ric. Biol. Selvaggina, 24: 79-90.
- ROSSI L., ECKEL B. & FERROGLIO E. (1997) - A survey of the gastro-intestinal nematodes of roe-deer (*Capreolus capreolus*) in a mountain habitat. Parasitologia, 39: 303-312.
- SIRONI M., BANDI C., MANFREDI M.T., ZAFFARONI E. & LANFRANCHI P. (1996) - Direct sequencing of the PCR amplified ribosomal ITS of *Teladorsagia circumcincta* from sheep. Parasitologia, 38: 125.
- SKRYABIN K.I., SHIKHOBALOVA N.P., SCHULZ R.S., POPOVA T.I., BOEV S.N. & DELYAMURE S.L. (1961) - Key to parasitic nematodes. Vol. III, Strongylata. Israel Program for Scientific Translation, Jerusalem.
- SOULSBY E.J.L. (1982) - Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. Baillière Tindall, London.
- SUAREZ V.H. & CABARET J. (1991) - Similarities between species of the Ostertagiinae (Nematoda: Trichostrongyloidea) in relation to host-specificity and climatic environment. Syst. Parasitol., 20: 179-185.
- SUAREZ V.H. & CABARET J. (1992) - Interbreeding in the subfamily Ostertagiinae (Nematoda: Trichostrongylidae) of ruminants. J. Parasitol., 78: 402-405.
- THUL J.E., FORRESTER D.J. & ABERCROMBIE C.L. (1985) - Ecology of parasitic helminths of wood ducks, *Aix sponsa*, in the atlantic flyway. Proc. Helminthol. Soc. Washington, 52: 297-310.
- TODD K.S., LEVINE N.D. & BOATMAN P.A. (1976) - Effect of temperature on survival of free-living stages of *Haemonchus contortus*. Am. J. Vet. Res., 37: 991-992.
- ZAFFARONI E., FRAQUELLI C., MANFREDI M.T., SIBONI A., LANFRANCHI P., SARTORI E. & PARTEL P. (1996) - Abomasal helminth communities in eastern Alpine sympatric Roe deer (*Capreolus capreolus*) and Chamois (*Rupicapra rupicapra*) populations. Suppl. Ric. Biol. Selv., 24: 53-68.
- ZAFFARONI E., CITTERIO C., SALA M. & LAUZI S. (1997) - Impact of abomasal nematodes on roe deer and chamois body condition in an alpine environment. Parasitologia, 39: 313-317.



# DIVERSITÀ DELLE COMUNITÀ PARASSITARIE INTESTINALI IN TRE POPOLAZIONI DI VOLPI

Capelli G. \*, Stancampiano L. \*\*, Magi M. \*\*\*, Poglayen G. °, Guberti V. °°

\* Istituto di Patologia e Igiene Veterinaria, Università degli Studi di Padova, Agripolis, 35020, Legnaro (Pd) ;

\*\* Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Agripolis, 35030, Legnaro (Pd);

\*\*\* Dipartimento di Patologia animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti, Università degli studi di Pisa, Viale delle Piagge, 2, 56100, Pisa;

° Istituto di Malattie Infettive, Profilassi e Polizia veterinaria, Università degli Studi di Messina, Via S.Cecilia, 30, Messina;

°° Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica, Via Cà Fornacetta, 9 – Ozzano dell'Emilia (Bo).

**Riassunto** - Le comunità parassitarie intestinali (nematodi e cestodi) di 298 volpi provenienti da tre zone diverse sono state confrontate in termini di ricchezza e diversità. I pacchetti intestinali sono stati raccolti in due annate venatorie consecutive: 89 provenienti dall'Altopiano di Asiago (Vi) (habitat "di montagna"), 100 dal Comune di Calci (Pi) (habitat "collinare") e 109 da 5 Comuni della provincia di Ferrara (habitat "pianeggiante"). Le volpi di pianura si differenziano nettamente dalle altre due popolazioni, più simili fra loro, mostrando una minor prevalenza ed intensità d'infestazione ed una minor diversità della comunità parassitaria. A livello di ricchezza, le volpi di pianura presentano un numero totale di specie maggiori (4 nematodi e 4 cestodi) rispetto alle altre due popolazioni (4 nematodi e 2 cestodi), ma un significativo minor numero di specie per soggetto (massimo 3 vs. 5). I parassiti a ciclo diretto, tutti nematodi, sono responsabili di differenze principalmente quantitative, mentre i parassiti a ciclo indiretto (cestodi + *Pterigodermatitis affinis*) sono responsabili di differenze anche qualitative. L'analisi discriminante è in grado di classificare correttamente il 67.45% dei casi. In particolare il 93% delle volpi di pianura è classificato come tale, ma le percentuali scendono al 66% ed al 40% nelle volpi rispettivamente di montagna e di collina. I parassiti che contribuiscono maggiormente a "discriminare" le popolazioni fra loro sono *Uncinaria stenocephala* e *Toxocara canis*, presenti in tutte e tre popolazioni, ma con prevalenza ed intensità significativamente diverse, *Pterigodermatitis affinis* e *Taenia polyacantha* per le volpi di montagna, *Mesocestoides* sp. per le volpi di collina, *Spirometra erinacei europaei* e *Taenia crassiceps* per quelle di pianura. Vengono discussi i probabili fattori responsabili delle differenze riscontrate.

**Abstract** - Diversity of the macroparasite intestinal community in three Red fox (*Vulpes vulpes*) populations in Italy. The intestinal community (nematodes and cestodes) of 298 foxes from three different regions was compared in terms of richness and diversity. The samples were collected in two consecutive hunting seasons: 89 from the Vicenza province ("highland habitat"), 100 from the Pisa province ("midland habitat") and 109 from the Ferrara province ("lowland habitat"). The lowland fox population clearly differs from the other two populations, showing a lower prevalence and intensity and a lower diversity of the parasite community. Considering parasite richness, lowland foxes show a higher number of parasite species than the other two populations (8 species vs 6), but a lower number of species/fox (3 vs 5). The direct life-cycle parasites, all nematodes, show quantitative differences of prevalence and intensity, while indirect life-cycle parasites (cestodes and *Pterigodermatitis affinis*) show mainly qualitative differences. Discriminant analysis was able to correctly classify the 67.45% of the cases. In particular, discriminant analysis correctly classified 93% of the lowland foxes, but only 66% and 40% of the highland and midland foxes respectively. The parasites that mainly contributed to discrimination among the three regions were: *Uncinaria stenocephala* and *Toxocara canis*, present in all the populations, but with significant different prevalence and intensity; *Pterigodermatitis affinis* and *Taenia polyacantha* for the highland foxes; *Mesocestoides* sp. for the midland foxes; *Spirometra erinacei europaei* and *Taenia crassiceps* for the lowland foxes. Possible factors affecting these differences are discussed.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 199 - 205

## 1. Introduzione

Nella complessa relazione ospite-parassita, le specie parassite si adattano non solo alla specie ospite, ma anche all'ambiente, inteso come un complesso di relazioni intercorrenti con l'intera catena ecologica in cui ospite e parassita vivono. Le due popolazioni vengono quindi strettamente modulate, in modo dinamico, dall'ambiente ed in particolare dagli adattamenti trofici ed ecologici in generale dell'ospite e delle

sue prede. In studi parassitologici effettuati in canidi di specie diverse: volpe, lupo e cane selvaticchio (Andreoli Andreoni, 1992), sono state riscontrate differenze significative nelle tre biocenosi parassitarie. Tali differenze sono state interpretate principalmente come un diverso utilizzo dell'ambiente da parte delle tre popolazioni. Al contrario, successivi studi effettuati su popolazioni di volpi provenienti da varie località della pianura padana (Faraglia,

1994) non avevano evidenziato differenze sostanziali nelle comunità parassite. Agli Autori è sembrato interessante comparare quest'ultimo omogeneo gruppo di volpi con altre due popolazioni provenienti da habitat diversi. Scopo del presente lavoro è dunque quello di valutare l'influenza dell'ambiente, prevalentemente in termini di ricchezza e diversità, sulla comunità parassita di popolazioni della stessa specie, ma che utilizzano habitat diversi.

## 2. Area di studio

Negli anni compresi fra il 1990 ed il 1996, tre popolazioni di volpi sono state controllate dal punto di vista parassitologico. Le volpi, abbattute in due annate venatorie consecutive, provenivano: 89 dall'Altopiano di Asiago in provincia di Vicenza (Stancampiano *et al.*, 1998), 100 dal comune di Calci nelle montagne pisane (Galliani, 1996) e 109 dalla provincia di Ferrara (Faraglia, 1994).

### 2.1. Caratteristiche generale dei territori

a) L'Altopiano di Asiago, che in seguito verrà definito habitat "di montagna", è situato entro i confini della regione Veneto nella provincia di Vicenza. Si estende per una superficie complessiva di 600 kmq, entro un intervallo di altitudini compreso fra i 600 ed i 2300 m s.l.m.

Nell'area di provenienza delle volpi, 15 zone fra comprensori alpini e aziende faunistico-venatorie, ben il 97% del territorio è definito agro-silvo-pastorale, comprendente il 59% di aree boschive, il 25% di prato, il 9% di terreno improduttivo, il 3% di seminativo. L'insieme delle aree urbane, industriali e delle strade superano di poco il 3%. L'antropizzazione è dunque scarsa, ad eccezione dell'"assalto turistico" nei mesi di luglio-agosto e nei mesi invernali. La temperatura media annua rilevata ad Asiago è di circa 6°C e l'umidità relativa del 74%. In generale tutta l'area dell'Altopiano è caratterizzata da elevata piovosità e nevosità; tuttavia si registra una forte variabilità a seconda dell'altitudine ed anche nei diversi anni.

b) Il comune di Calci è situato a nord dell'abitato di Pisa nei Monti Pisani. Tuttavia non si può parlare di vera e propria zona montana in quanto la vetta più alta supera di poco i 900 m s.l.m. ed anche per via del clima, particolarmente mite in questa zona, a causa della vicinanza del mare e dell'azione di schermo degli stessi Monti Pisani ai venti freddi del nord. Questo ambiente viene perciò definito habitat "collinare". I Monti Pisani sono caratterizzati da un'alta densità di popolazione, ampie aree

boschive e pochissime colture erbacee. Fino a 400 m s.l.m. la superficie è coperta quasi totalmente da oliveti, al di sopra domina il bosco, con un assetto vegetazionale abbastanza confuso, essendo il risultato di una lunga attività antropica (impianto di conifere e castagneti da frutto). Il clima viene definito temperato caldo, con una temperatura media annua di 14-15°C. Le precipitazioni piovose sono scarse, neve e grandine piuttosto rare.

c) La terza zona, definita habitat "di pianura", è rappresentata da 5 comuni della provincia di Ferrara: Bondeno, Codigoro, Comacchio, Cento e Argenta. Questa area è caratterizzata da un'elevata antropizzazione ed un'agricoltura intensiva con tendenza alla monotizzazione culturale. Sono presenti, specialmente nel comune di Codigoro, zone umide rappresentate da canali, casse di colmata, ma anche da itticultura intensiva e bacini per pesca sportiva. Il clima è temperato continentale.

## 3. Materiali e metodi

### 3.1. Indagini parassitologiche

Il contenuto intestinale delle 298 volpi è stato analizzato con le comuni tecniche parassitologiche. I parassiti sono stati raccolti in alcool 70°, glicerinato al 5%, contati e identificati. I nematodi sono stati chiarificati in lattofenolo e, quando necessario, colorati con Fast-Green. I cestodi sono stati colorati con carminio allume e montati in balsamo del Canada per visualizzare le caratteristiche delle proglottidi, mentre gli scolici sono stati strisciati su vetrino e gli uncini disegnati e misurati alla camera lucida. Per la classificazione sono state utilizzate le chiavi fornite da Mozgovoï (1968) e Anderson *et al.* (1974), per i nematodi e da Mathevossian (1963), Wardle & McLeod (1952), Wardle *et al.* (1974), Schmidt (1986) per i cestodi.

### 3.2. Analisi statistica

Per ogni parassita sono stati calcolati la prevalenza, l'intensità media (Bush *et al.*, 1997) e l'Indice di importanza I (Guberti *et al.*, 1992), che permette di distinguere le specie in dominanti, codominanti e subordinate. A livello di comunità parassitaria sono stati calcolati il numero di nematodi/volpe, il numero di cestodi/volpe, il numero di parassiti totali/volpe ed il numero di specie parassite/volpe (Marcogliese & Cone, 1998). Come indice di valutazione della diversità della comunità parassitaria è stato scelto l'indice C di Simpson (Simpson, 1949). I dati sono stati testati per la normalità tramite il test di Kolmogorov-Smirnov; non

essendo alcuna variabile risultata distribuita normalmente sono stati utilizzati i seguenti test statistici non parametrici (Siegel, 1956): i test del  $\chi^2$  e della probabilità esatta di Fisher, per il confronto delle prevalenze e delle intensità medie fra le tre popolazioni; i test di Kruskal-Wallis e U di Mann-Whitney per il confronto fra il numero di nematodi, cestodi e parassiti totali/volpe e del numero di specie/volpe. I dati trasformati ( $\log_{10}$ ) e successivamente standardizzati (punteggi Z) al fine di tendere alla normalità, sono stati infine sottoposti all'analisi discriminante (Camussi et al., 1982) per verificare se fosse possibile risalire alla zona di origine delle volpi, in base alle differenze nelle infracomunità parassitarie. I punteggi discriminanti relativi ad ogni volpe sono stati correlati al numero di parassiti (coefficiente di correlazione di Spearman) per evidenziare quali specie parassite fossero responsabili della eventuale capacità discriminante fra le volpi delle tre zone. Da ogni tipo di analisi statistica è stata esclusa la specie *Taenia* sp., poiché nella maggior parte dei casi si tratta di esemplari in cattivo stato di conservazione o incompleti e non di parassiti con caratteristiche morfologiche diverse dalle specie presenti. La sensazione degli autori è che si tratti molto presumibilmente delle stesse specie identificate nelle popolazioni.

#### 4. Risultati

La prevalenza per parassiti in generale è diversa ( $p < 0.01$ ) in tutte le tre zone, maggiore nelle volpi di montagna (92%), rispetto alle volpi di collina (82%) e di pianura (64%). Per la maggior parte dei parassiti esistono differenze di prevalenza ed intensità (Tab.1). In particolare *Uncinaria stenocephala* mostra un trend positivo di prevalenza ed intensità in relazione all'altitudine. Tale correlazione è evidente anche all'interno della singola popolazione di montagna, che registra il maggior range di altitudine (600-2300 m s.l.m.). A livello di ricchezza, le volpi di pianura presentano un numero totale di specie maggiore, rappresentate da 4 nematodi e 4 cestodi, rispetto alle altre due popolazioni che presentano 4 nematodi e 2 cestodi; il numero medio di specie per soggetto è invece minimo nelle volpi di pianura (0.88) e cresce nelle volpi di collina (1.4) e in quelle di montagna (1.99) (Fig.1 e Tab.2). Si può osservare come le volpi di pianura mostrino una intensità parassitaria totale (nematodi + cestodi) nettamente inferiore alle altre due popolazioni ( $p < 0.01$ ), più simili fra loro (Fig.2 e Tab.2). Il

maggior numero di parassiti totali di queste due popolazioni è in realtà dovuto ad una intensità maggiore di nematodi nelle volpi di montagna ed a una intensità maggiore di cestodi nelle volpi di collina (Tab. 2). La diversità parassitaria calcolata tramite l'indice C di Simpson attribuisce un più elevato grado di diversità alle comunità parassitarie delle volpi di collina e montagna rispetto a quelle di pianura (Tab. 2). Nella tabella 3 è riassunta la struttura delle comunità parassitarie. I nematodi *Uncinaria stenocephala*, *Toxocara canis* e *Trichuris vulpis* sono le uniche specie presenti in tutte e tre le popolazioni e, pur con marcate differenze di prevalenza ed intensità, caratterizzano fortemente le comunità parassite, trovandosi in posizione dominante/codominante (ad eccezione di *Trichuris vulpis* nelle volpi di collina che risulta subordinata); le specie di cestodi invece assumono importanza molto diversa a seconda della zona: troviamo *Taenia polyachanta* dominante in montagna, *Taenia crassiceps* e *Spirometra erinacei* dominanti in pianura e *Mesocostoides* sp. in collina. Per quest'ultimo parassita però le specie in questione potrebbero essere due o più.

L'analisi discriminante (Tab. 4) è in grado di classificare correttamente il 67.45% dei casi. Praticamente solo le volpi di pianura sono classificate come tali in elevata percentuale (93.6%).

Nella tab. 5 sono riportati i parassiti che contribuiscono maggiormente a "discriminare" le popolazioni fra loro: si tratta in genere delle specie dominanti, ad eccezione delle volpi di montagna dove anche le specie codominanti *Pterygodermatites affinis*, *Trichuris vulpis* e *Taenia crassiceps* sono significativamente associate alle relative funzioni discriminanti.

#### 5. Discussione e conclusioni

In base alle differenze delle comunità parassitarie e ai risultati dell'analisi discriminante, possiamo genericamente dividere le volpi considerate in due gruppi, quelle di pianura e quelle di collina-montagna. Tali differenze si esprimono principalmente in un maggior grado di diversità, una maggior ricchezza di parassiti totali per volpe e di numero di specie per volpe nelle popolazioni di collina-montagna rispetto a quella di pianura. Queste variazioni, essenzialmente quantitative, sono probabilmente in relazione alla diversa disponibilità alimentare negli ecosistemi considerati. In collina e montagna l'ambiente meno ricco di risorse favorisce "home-ranges" più ampi, una dieta molto varia per il raggiungimento delle calorie necessarie al

**Tab. 1** - Specie identificate, prevalenze, intensità e differenze statisticamente significative(\*) (p<0.01)

SPECIE	PREVALENZE (%)			INTENSITÀ MEDIA		
	montagna	collina	pianura	montagna	collina	pianura
<b>Nematodi</b>						
<i>Uncinaria stenocephala</i>	74 <sup>CP</sup>	41 <sup>MP</sup>	11 <sup>MC</sup>	14 <sup>CP</sup>	10 <sup>MP</sup>	2 <sup>MC</sup>
<i>Ancylostoma caninum</i>	-	-	2	-	-	1.5
<i>Toxocara canis</i>	66 <sup>C</sup>	32 <sup>MP</sup>	70 <sup>C</sup>	6 <sup>C</sup>	3.5 <sup>MP</sup>	4.3 <sup>C</sup>
<i>Toxascaris leonina</i>	-	1	-	- <sup>C</sup>	5 <sup>MP</sup>	- <sup>C</sup>
<i>Trichuris vulpis</i>	9 <sup>C</sup>	1 <sup>M</sup>	4	1.6	1	1.5
<i>Pterygodermatitis affinis</i>	8 <sup>CP</sup>	- <sup>M</sup>	- <sup>M</sup>	4	-	-
<b>Cestodi</b>						
<i>Taenia crassiceps</i>	9 <sup>C</sup>	- <sup>MP</sup>	9 <sup>C</sup>	7 <sup>C</sup>	- <sup>MP</sup>	6.2 <sup>C</sup>
<i>Mesocestoides sp.</i>	- <sup>C</sup>	37 <sup>MP</sup>	1 <sup>C</sup>	- <sup>C</sup>	24.6 <sup>MP</sup>	1 <sup>C</sup>
<i>Dipylidium caninum</i>	-	4	3	-	3	3.7
<i>Taenia polyachanta</i>	20 <sup>CP</sup>	- <sup>M</sup>	- <sup>M</sup>	4.6 <sup>CP</sup>	- <sup>M</sup>	- <sup>M</sup>
<i>Spirometra erinacei europeii</i>	- <sup>P</sup>	- <sup>P</sup>	10 <sup>MC</sup>	- <sup>P</sup>	- <sup>P</sup>	2 <sup>MC</sup>

m = diverso da montagna; c = diverso da collina; p = diverso da pianura

**Tab. 2** - Medie, numero massimo e differenze statisticamente significative (p<.0.01) di alcune misurazioni.

MISURAZIONE/VOLPE	MONTAGNA		COLLINA		PIANURA	
	media	n.max.	media	n.max.	media	n.max.
Totale nematodi	13.8 <sup>CP</sup>	170	5.4 <sup>M</sup>	71	2.3 <sup>M</sup>	19
Totale cestodi	2.2 <sup>C</sup>	39	16.8 <sup>CP</sup>	331	0.9 <sup>C</sup>	23
Totale parassiti	16.1 <sup>P</sup>	180	22.3 <sup>P</sup>	347	3.2 <sup>MC</sup>	23
Numero specie	1.99 <sup>CP</sup>	5	1.4 <sup>MP</sup>	5	0.88 <sup>CM</sup>	3
Indice di diversità C di Simpson	0.243		0.236		0.318	

m = diverso da montagna; c = diverso da collina; p = diverso da pianura

sostentamento, con maggiori probabilità di acquisire parassiti (= > prevalenza ed intensità d'infestazione). In pianura le volpi hanno a disposizione fonti alimentari più ricche (discariche a cielo aperto, scarti di allevamenti, ecc.), e meno disperse sul territorio. Una volpe che frequenta una discarica, probabilmente trarrà da questa la maggior parte del suo fabbisogno energetico, favorendo l'instaurarsi di cicli parassitari focali, probabilmente responsabili della maggior ricchezza di specie parassite a livello di popolazione, ma allo stesso tempo del minor numero di specie e parassiti a livello individuale. Alla diversità delle comunità parassite contri-

buiscono sia i nematodi sia i cestodi. Più correttamente possiamo distinguere i parassiti a ciclo diretto (tutti nematodi) e i parassiti a ciclo indiretto (cestodi e *Pterigodermatitis affinis*). I primi sono responsabili di differenze quantitative di prevalenza ed intensità d'infestazione, i secondi di differenze prevalentemente qualitative. Quest'ultimo aspetto è una prova dell'importanza della componente ambientale sulla struttura delle comunità parassite ed è legato alla presenza e all'abbondanza degli ospiti intermedi prede della volpe, comprendenti acari, insetti, anfibi, rettili, uccelli, roditori ed altri piccoli mammiferi. Ad esempio

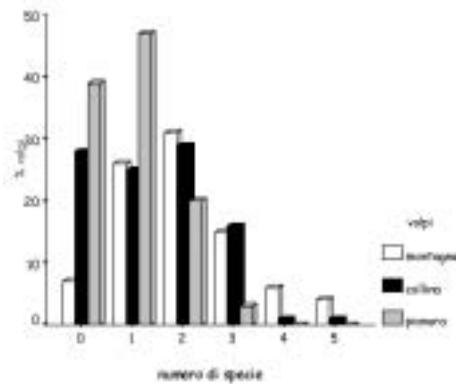


Fig. 1 – Distribuzione del numero di specie/volpe nelle tre popolazioni

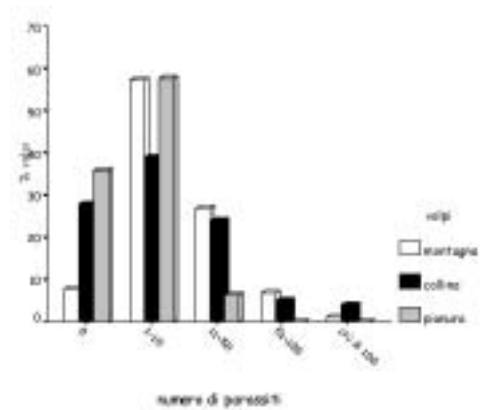


Fig. 2 – Distribuzione del numero totale di parassiti (nematodi + cestodi)/volpe nelle 3 popolazioni.

Tab. 3 - Struttura delle comunità parassitarie (D=dominante, C=codominante, S=subordinata)

SPECIE	MONTAGNA	COLLINA	PIANURA
<b>nematodi</b>			
<i>Uncinaria stenocephala</i>	D	D	D
<i>Ancylostoma caninum</i>	-	-	C
<i>Toxocara canis</i>	D	D	D
<i>Toxascaris leonina</i>	-	C	-
<i>Trichuris vulpis</i>	C	S	C
<i>Pterygodermatitidis affinis</i>	C	-	-
<b>cestodi</b>			
<i>Taenia crassiceps</i>	C	-	D
<i>Mesocestoides sp.</i>	-	D	S
<i>Dipylidium caninum</i>	-	C	C
<i>Taenia polyachanta</i>	D	-	-
<i>Spirometra erinacei europaei</i>	-	-	D

*Spirometra erinacei europaei* è presente solo in pianura, e più precisamente in un'unica zona che si differenzia dalle altre per la maggior quantità di zone umide, habitat ideale per rettili e anfibi, secondi ospiti intermedi del parassita. *Mesocestoides sp.* si ritrova in grandi quantità nelle colline pisane, dove l'habitat favorisce la contemporanea presenza dei vari ospiti intermedi di questo parassita, acari, anfibi, roditori ed uccelli. *Taenia polyachanta* è invece presente solo in montagna e riconosce come

ospiti intermedi vari tipi di roditori (*Muridae* e *Cricetidae*). Per quest'ultimo cestode sono state evidenziate differenze anche all'interno della stessa popolazione di montagna. Il parassita si trova in posizione subordinata al di sotto degli 800 m s.l.m. per passare in posizione dominante nelle volpi catturate al di sopra degli 800 m s.l.m. Tale caratteristica può essere spiegata o con una maggiore presenza delle specie di roditori che possono fungere da ospiti intermedi o con una maggior specializzazione alimentare

**Tab. 4** - Risultati dell'analisi discriminante

Provenienza reale volpi	Posizione prevista delle volpi nei 3 gruppi			
	Montagna	Collina	Pianura	Totale
Montagna	<b>59 (66.3%)</b>	8 (9%)	22 (24.7%)	89
Collina	15 (15%)	<b>40 (40%)</b>	45 (45%)	100
Pianura	6 (5.5%)	1 (0.9%)	<b>102 (93.6%)</b>	109

**Tab. 5** - Correlazioni significative ( $p < 0.01$ ) fra il numero di parassiti ed i relativi punteggi delle funzioni discriminanti.

Provenienza volpi	Specie parassita	Coefficiente di correlazione di Spearman
Montagna	<i>Uncinaria stenocephala</i>	0.859
	<i>Taenia polyachanta</i>	0.551
	<i>Pterigodermatitis affinis</i>	0.365
	<i>Trichuris vulpis</i>	0.330
	<i>Toxocara canis</i>	0.301
	<i>Taenia crassiceps</i>	0.220
Collina	<i>Mesocestoides spp.</i>	-0.803
	<i>Uncinaria stenocephala</i>	-0.717
	<i>Toxocara canis</i>	0.447
Pianura	<i>Toxocara canis</i>	0.529
	<i>Spirometra erinacei europaei</i>	0.513
	<i>Uncinaria stenocephala</i>	0.463
	<i>Taenia crassiceps</i>	0.324

delle volpi di queste zone. L'elevato "consumo" di roditori delle volpi di montagna è testimoniato anche dalla contemporanea presenza, in posizione codominante, di *Taenia crassiceps*. Un'influenza diretta del clima, altro fattore importante di un ecosistema, soprattutto per i parassiti a ciclo diretto, è evidenziabile esclusivamente per *Uncinaria stenocephala*, che predilige climi più freddi (Holmes & Podesta, 1968; Custer & Pence, 1981) e si ritrova con prevalenze ed intensità sempre maggiori in relazione all'altitudine in tutte e tre le popolazioni considerate. Altri parassiti a ciclo diretto, ma con uova molto più resistenti nell'ambiente come *Toxocara canis* e *Trichuris vulpis*, presentano differenze di prevalenza ed intensità meno marcate e soprattutto queste differenze non sembrano essere in correlazione col clima.

In conclusione possiamo affermare che differenze significative nella composizione delle comunità parassitarie possono essere messe in evidenza anche nella stessa specie, quando questa sia caratterizzata, come la volpe, da un'elevata plasticità biologica che le permette di adattarsi ad habitat estremamente diversi fra loro.

### Bibliografia

- ANDERSON R.C., CHABAUD A.G. & WILMOTT S. (1974) - *C.I.H. Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates*. C.A.B., Farnham Royal.
- ANDREOLI ANDREONI A. (1992) - *Biologia delle specie ospiti e influenza sulla struttura delle biocenosi parassitarie: analisi degli elminti intestinali in tre specie di canidi in Italia*. Tesi di Laurea, Università degli Studi di Milano.
- BUSH A.O., LAFFERTY K.D., LOTZ J.M. & SHOSTAK A.W. (1997) - Parasitology meets ecology on its

- own terms: Margolis *et al.* revisited. *J.Parasitol.*, 83 (4), 575-583.
- CAMUSSI A., MOLLER F., OTTAVIANO E. & SARI GORLA M. (1986) - *Metodi statistici per la sperimentazione biologica*. Zanichelli, Bologna.
- CUSTER J.W. & PENCE D.B. (1981) - Host-parasites relationship in the wild Canidae of North America. Ecology of helminth infections in the genus *Canis*. *World wide Furbearer conference Frostburg*: 730-759.
- HOLMES J.C. AND PODESTA R. (1968) - The helminths of wolves and coyotes from the forested regions of Alberta. *Can.J.Zool.* 46, 1193-1204.
- FARAGLIA P.L. (1994) - *Fauna parassitaria della volpe (Vulpes vulpes): indagine in provincia di Ferrara*. Tesi di Laurea, Università degli Studi di Bologna, A.A. 1993/94.
- GALLIANI M. (1996) - *Parassitismo vulpino in provincia di Pisa: analisi di un biennio*. Tesi di Laurea, Università degli Studi di Bologna.
- GUBERTI V., POGLAYEN G. & STANCAMPIANO L. (1992) - Analisi delle biocenosi parassitarie in due popolazioni di cinghiali. *Parassitologia (Suppl.)*, 3: 80-81.
- MARCOGLIESE D.J. AND CONE D.K. (1998) - Comparison of richness and diversity of macroparasite communities among eels from Nova Scotia, the United Kingdom and Australia. *Parasitology*, 116: 73-83.
- MATHEVOSSIAN E.M. (1963) - *Essentials of Cestodology*. Israel Program for Scientific Translation, Jerusalem.
- MOZGOVOI A.A. (1968) - *Ascaridata of Animals and Man and the diseases caused by them*. Israel Program for Scientific Translation, Jerusalem.
- SCHMIDT G.D. (1986) - *Handbook of Tapeworm Identification*. CRC Press, Inc. Boca Raton.
- SIEGEL S. (1956) - *Non parametric statistic for the behavioural sciences*. McGraw-Hill, London.
- SIMPSON E.H. (1949) - Measurement of diversity. *Nature*, 163, 688.
- STANCAMPIANO L., CAPELLI G., SCHIAVON E., MUTINELLI F. & BOZZOLAN G. (1998) - Trichinellosis, sarcoptic mange, filariosis and intestinal helminths stability in a fox population (*Vulpes vulpes*). *Parassitologia*, 40 (Suppl.1), 171.
- WARDLE R.A. AND MCLEOD J.A. (1952) - *The zoology of tapeworms*. University of Minnesota, Minneapolis.
- WARDLE R.A., MCLEOD J.A. & RADINOVSKI M. (1974) - *Advances in the Zoology of Tapeworm*. University of Minnesota, Minneapolis.



# RILIEVI EMATICI IN ASINI BIANCHI DELL'ASINARA SOTTOPOSTI A TRATTAMENTO PER IL CONTROLLO DELLE ECTOPARASSITOSI

Carcangiu V., Vacca G. M., Cubeddu G. M.\*, Bini P. P.

Dipartimento di Biologia Animale - Università degli Studi, via Vienna, 2 - 07100 Sassari

\*Istituto di Patologia Speciale e Clinica Medica Veterinaria - Università degli Studi, via Vienna, 2 - 07100 Sassari

**Riassunto** - Nel Parco Nazionale dell'Asinara vivono, allo stato libero, alcune decine di esemplari di asini dal caratteristico mantello albino. Questo nucleo presenta elementi demografici tali da farlo inserire tra le popolazioni equine da sottoporre a salvaguardia. Nel presente lavoro si riportano i risultati di un'indagine condotta su 10 soggetti, ai quali è stato effettuato un trattamento farmacologico, con Ivermectina s. c. (0,2 mg/kg p.v.), per il controllo di una infestazione da ectoparassiti. Al fine di valutare l'efficacia del trattamento gli animali sono stati seguiti dal punto di vista clinico. Inoltre, da ciascun soggetto sono stati prelevati dei campioni di sangue, immediatamente prima, dopo 7 e 28 giorni dal trattamento, per verificare eventuali variazioni di alcuni parametri ematici. Sul sangue sono stati determinati il numero di globuli rossi, globuli bianchi, granulociti, linfociti mononucleati, piastrine, l'ematocrito ed il tasso di emoglobina; sul plasma le concentrazioni di glucosio, trigliceridi, colesterolo totale, proteine totali, albumine, ALT, AST, LDH,  $\gamma$ GT, calcio, fosforo, magnesio e cloro. L'analisi della varianza dei dati ha messo in evidenza variazioni statisticamente significative tra il prelievo pre-trattamento e quello effettuato a 7 gg dallo stesso, per numero di globuli bianchi, concentrazione di glucosio, albumine e, ad eccezione della  $\gamma$ GT, degli enzimi. Nel complesso si è evidenziata l'efficacia del trattamento e, conseguentemente, un miglioramento dello stato generale dei soggetti. I bassi valori dell'emoglobina e dell'ematocrito confermano come questi animali presentino un particolare stato carenziale, in parte riconducibile all'azione ematofaga dei parassiti, in parte per una insufficiente presenza di elementi minerali nel pascolo dell'isola. Si ribadisce, in conclusione, l'esigenza di costanti monitoraggi per facilitare una maggiore prevenzione sanitaria e predisporre adeguati piani di integrazione alimentare. Il tutto al fine di tutelare meglio questo caratteristico elemento faunistico del parco.

**Abstract** - Variations in blood parameters of white donkeys on Asinara under treatment for ectoparasitosis. In the Asinara National Park a few dozen donkeys with the characteristic albino coat live in a free state. The demographic situation of these donkeys places them among equine populations to be safeguarded. The present work reports the results of a survey of 10 subjects given Ivermectin (0.2 mg/kg b.w.) to cure ectoparasite infestation. The animals were kept under clinical observation in order to assess the efficacy of the treatment. In addition, blood samples were taken from each animal just before and after 7 and 28 days of treatment to determine any variations in haematic parameters. The number of red blood cells, white blood cells, granulocytes, mononucleated lymphocytes, platelets, haematocrit and haematoglobin values were assayed in the blood; glucose, triglycerides, total cholesterol, total protein, albumin, ALT, AST, LDH,  $\gamma$ GT, calcium, phosphorus, magnesium and chlorine were measured in the plasma. Analysis of variance of the data showed statistically significant variations between the pre-treatment samples and the blood taken after 7 days of treatment with regard to white blood cells, glucose and albumin concentrations and the enzymes, apart from  $\gamma$ GT. On the whole, the treatment was shown to be effective with a consequent improvement in the general condition of the donkeys. The low haemoglobin and haematocrit values confirm that these animals are seriously undernourished, partly due to the haematophagous action of the parasites but mainly on account of a lack of minerals in the island pasture. In conclusion, our study confirmed the need for constant monitoring to prevent disease and for the provision of supplementary feed in order to conserve these animals which are such a distinctive feature of the Park.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 207 - 210

## 1. Introduzione

Gli asini bianchi dell'Asinara rappresentano l'elemento faunistico più conosciuto e caratterizzante l'isola. Benché non siano propriamente animali selvatici (è molto probabile, infatti, si tratti di asini di razza sarda, albini), per le condizioni in cui vivono (allo stato libero) e per la loro collocazione geografica (Parco Nazionale), possono essere, in un certo qual modo, assimilati a questi. Ulteriore motivo di interesse per questa popolazione è che, essendo numerica-

mente ridotta, viene inserita tra le risorse genetiche da sottoporre a tutela. In materia di salvaguardia si rende sempre necessaria una corretta gestione delle popolazioni faunistiche che tenga conto, prima di tutto, del rispetto del benessere animale. Benessere che deve essere inteso come una compenetrazione tra lo stato di salute degli individui e il contesto territoriale in cui essi vivono e, che deve soddisfare alcuni fattori di base, tra i quali l'equilibrio della biomassa con le diverse componenti eco-

**Tab. 1** - Variazioni medie ( $\pm$  e. s.) dei parametri ematologici nel periodo in osservazione

Parametri		I		II		III				
RBC	( $\times 10^{12}/l$ )	5,92	$\pm$	0,84	6,04	$\pm$	0,41	5,24	$\pm$	0,43
WBC	( $\times 10^9/l$ )	8,12 <sup>a</sup>	$\pm$	0,64	10,47 <sup>b</sup>	$\pm$	0,50	6,99 <sup>a</sup>	$\pm$	1,07
Granulociti	( $\times 10^9/l$ )	5,10 <sup>B</sup>	$\pm$	0,59	7,22 <sup>B</sup>	$\pm$	0,35	3,82 <sup>A</sup>	$\pm$	0,57
"	(%)	62,20	$\pm$	3,10	54,96	$\pm$	9,28	42,00	$\pm$	5,32
Linf. mono	( $\times 10^9/l$ )	3,02	$\pm$	0,19	3,25	$\pm$	0,89	3,17	$\pm$	0,65
" "	(%)	37,80	$\pm$	3,10	36,04	$\pm$	11,67	58,00	$\pm$	5,32
PTL	( $\times 10^9/l$ )	590,33	$\pm$	142,03	447,00	$\pm$	124,09	468,20	$\pm$	212,47
HTC	(%)	27,66	$\pm$	2,59	27,39	$\pm$	1,23	28,35	$\pm$	4,71
Hb	(g/dl)	7,28 <sup>ab</sup>	$\pm$	0,72	6,70 <sup>a</sup>	$\pm$	0,43	9,23 <sup>b</sup>	$\pm$	1,35

Lettere maiuscole indicano differenze significative per  $P < 0,01$ ; minuscole per  $P < 0,05$

logiche dell'ambiente (Balbo, 1990). Tra queste ultime vanno considerate le diverse specie di parassiti le quali, direttamente o indirettamente (es. veicolo di patologie ad eziologia infettiva), possono condizionare la stabilità della specie in un dato ambiente. Nel caso specifico degli asini bianchi è stato evidenziato, infatti, che tra i diversi fattori che condizionano un normale incremento demografico possono includersi le gravi infestazioni endoparassitarie (Pinna et al., 1995; Vacca et al., 1998).

Nonostante non sia unanime il riconoscere l'opportunità del controllo farmacologico delle parassitosi negli animali allo stato libero (Lanfranchi, 1990), in considerazione di nostre precedenti esperienze, abbiamo ritenuto opportuno sottoporre diversi soggetti di questa popolazione, sui quali era particolarmente pressante l'azione di ectoparassiti, ad adeguato trattamento. Gli animali sono stati tenuti in osservazione per circa un mese dal trattamento, e su un campione rappresentativo, inoltre, sono stati prelevati dei campioni di sangue allo scopo di monitorare eventuali variazioni legate alle mutate condizioni di benessere.

## 2. Metodi

Per l'indagine, condotta nel mese di Maggio, periodo in cui nelle diverse specie di animali presenti nell'Asinara si registrano alte infestazioni da ectoparassiti, sono stati utilizzati 10 asini bianchi, di ambo i sessi e di età compresa tra i 3 ed i 12 anni. I soggetti risultavano in condizioni di nutrizione discrete, con cariche endoparassitarie minime e considerate non preoccupanti ma presentavano una grave infestazione da Ixodidi (generi *Rhipicephalus*, *Hyalomma*,

*Haemaphysalis*) (Starkoff, 1958) e da Anopluridi (*Haematopinus* sp.) (Neveu-Lemarie, 1938). Per ridurre al minimo il rischio di eventuali trasmissioni di quelle patologie infettive, veicolate soprattutto dalle zecche, che recenti indagini hanno fatto rilevare anche sull'isola in altre specie (ehrlichiosi, rickettsiosi) (Cubeddu et al., 1995) si è ritenuto opportuno effettuare un trattamento antiparassitario anche per valutare l'azione patogena di tali ectoparassiti su questa particolare popolazione equina. Allo scopo è stata somministrata Ivermectina s. c. alla dose di 0,2 mg/kg p.v. Circa 15 giorni prima dell'inizio della prova, per escludere eventuali interferenze provocate da N.G.I., si è proceduto ad un intervento farmacologico volto ad eliminarli.

Immediatamente prima del trattamento con l'Ivermectina è stato effettuato, da ciascun animale, un prelievo di sangue giugulare mediante provette sottovuoto all'eparinato di litio. Dopo il trattamento gli animali venivano tenuti in recinto al fine di garantire il controllo clinico periodico e per poter facilmente effettuare i prelievi ematici dopo 7 e 28 gg. Dai campioni di sangue sono stati determinati i seguenti parametri: globuli rossi (RBC), globuli bianchi (WBC), granulociti, linfociti mononucleati, piastrine (PTL), ematocrito (HTC) ed emoglobina (Hb). Sul plasma, inoltre, mediante apparecchiatura semiautomatica (Vitalab 200), con comuni metodiche colorimetriche (Sentinel, Milano) sono state determinate le concentrazioni di: glucosio, trigliceridi, colesterolo totale, proteine totali, albumine, AST, ALT, LDH,  $\gamma$ GT, calcio, fosforo, magnesio e cloro. I dati sono stati sottoposti ad analisi della varianza con test dei contrasti.

**Tab. 2** - Variazioni medie ( $\pm$  e. s.) dei parametri ematochimici durante il periodo in osservazione

Parametri		I		II		III	
Glucosio	(mg/dl)	88,40 <sup>B</sup>	$\pm$ 7,61	76,89 <sup>A</sup>	$\pm$ 6,53	78,59 <sup>AB</sup>	$\pm$ 7,16
Trigliceridi	(mg/dl)	50,99	$\pm$ 3,47	44,86	$\pm$ 5,01	50,28	$\pm$ 6,43
Colester. tot.	(mg/dl)	85,01	$\pm$ 3,12	78,31	$\pm$ 9,20	81,17	$\pm$ 7,51
Proteine tot.	(g/dl)	8,89	$\pm$ 0,38	8,52	$\pm$ 0,35	8,70	$\pm$ 0,51
Albumine	(g/dl)	3,27 <sup>b</sup>	$\pm$ 0,12	2,94 <sup>a</sup>	$\pm$ 0,07	3,23 <sup>b</sup>	$\pm$ 0,11
ALT	(U/l)	23,21 <sup>B</sup>	$\pm$ 4,12	10,01 <sup>A</sup>	$\pm$ 2,30	11,87 <sup>AB</sup>	$\pm$ 2,22
AST	(U/l)	23,56 <sup>B</sup>	$\pm$ 3,24	10,83 <sup>A</sup>	$\pm$ 1,78	15,23 <sup>AB</sup>	$\pm$ 1,67
LDH	(U/l)	155,09 <sup>B</sup>	$\pm$ 23,33	79,73 <sup>A</sup>	$\pm$ 12,46	176,06 <sup>B</sup>	$\pm$ 32,48
$\gamma$ GT	(U/l)	88,01	$\pm$ 10,43	95,43	$\pm$ 8,75	95,10	$\pm$ 4,43
Ca	(mg/dl)	12,29	$\pm$ 0,41	12,65	$\pm$ 0,45	13,07	$\pm$ 0,68
P	(mg/dl)	3,54	$\pm$ 0,23	4,27	$\pm$ 0,31	4,39	$\pm$ 0,18
Mg	(mg/dl)	2,21	$\pm$ 0,15	2,07	$\pm$ 0,12	2,29	$\pm$ 0,14
Cl	(mg/dl)	94,41	$\pm$ 7,65	93,20	$\pm$ 6,04	94,91	$\pm$ 5,78

Lettere maiuscole indicano differenze significative per  $P < 0,01$ ; minuscole per  $P < 0,05$

### 3. Risultati

I rilievi clinici e copromicroscopici effettuati al momento del trattamento per gli ectoparassiti non evidenziavano presenza di uova di N.G.I. né sintomi riferibili alla loro presenza.

Nell'arco della prima settimana si è registrata l'efficacia del trattamento con la totale scomparsa degli ectoparassiti. Non è stato rilevato alcun segno clinico o dismetabolia attribuibile ad effetti collaterali del farmaco. Nelle tabelle 1 e 2 vengono riportati, rispettivamente, i valori medi ( $\pm$  e.s.) dei parametri ematologici ed ematochimici determinati prima del trattamento (I), a 7 (II) e 28 gg (III) da questo.

Relativamente ai parametri ematologici hanno mostrato differenze significative solo i granulociti ( $P < 0,01$ ), WBC e l'emoglobina ( $P < 0,05$ ). Tra i parametri ematochimici, glucosio, ALT, AST ed LDH ( $P < 0,01$ ) e albumine ( $P < 0,05$ ) sono risultati con valori minimi nel prelievo effettuato a 7 gg.

### 4. Discussione

Il numero medio dei globuli rossi è risultato simile a quello ritrovato nella medesima popolazione da Cubeddu *et al.* (1991). La concentrazione ematica di globuli bianchi è risultata più bassa rispetto a quanto osservato in precedenza sempre sugli asinelli bianchi con carica endoparassitaria alta (Pinna *et al.*, 1994) ma simili a quanto ritrovato da Cubeddu *et al.* (1991).

Presumibilmente i valori da noi ritrovati indicano che l'organismo non ha avuto una reazione elevata all'azione degli ectoparassiti.

L'aumento del WBC riscontrato nel prelievo ai 7 gg risulta prevalentemente dovuto all'aumento della componente granulocitaria. Le piastrine sono risultate con valori più elevati rispetto a quanto osservato nei precedenti lavori riferiti alla medesima popolazione; l'ematocrito si è mantenuto costantemente su livelli decisamente più bassi di quelli considerati fisiologici per la specie (Zinkl *et al.*, 1990). L'emoglobina ha presentato sempre tassi inferiori al range di specie; quest'ultimo dato, che conferma i rilievi effettuati su asini della stessa popolazione, potrebbe essere attribuibile, oltre che alle pregresse carenze alimentari legate ad un insufficiente apporto di minerali (Fe, Cu) dei pascoli, peraltro già evidenziate da noi e da altri in diverse specie selvatiche e domestiche insistenti sull'isola (Naitana *et al.*, 1989; Vacca *et al.*, 1998), anche all'effetto dei parassiti ematofagi, come farebbe presumere il leggero aumento dell'Hb registrato nell'ultimo rilievo. La glicemia si è ha mantenuta all'interno dei limiti fisiologici. I trigliceridi ed il colesterolo totale, costanti nell'arco del periodo della prova, hanno presentato valori medi leggermente al di sotto del range riportato per diverse razze asinine e su soggetti bianchi (Zinkl *et al.*, 1990; Vacca *et al.*, 1998; Cubeddu *et al.*, 1991).

I bassi valori di questi parametri, per quanto simili a quelli evidenziati da Trombetta in asini somali, lasciano intendere uno stato, seppur lieve, di ipoalbuminemia dei soggetti. Le proteine totali e le albumine sono risultate presenti in concentrazioni nell'ambito della "normalità". La diminuzione riscontrata per le albumine nel prelievo effettuato a 7 gg potrebbe essere attribuita ad una leggera modificazione di sintesi da parte del fegato indotta dal farmaco. Il quadro enzimatico non ha evidenziato particolari stati di sofferenza organica. La diminuzione riscontrata per ALT ed AST nel secondo prelievo, è verosimilmente da ricondurre ad una migliorata condizione generale degli animali a seguito del trattamento. Durante il periodo delle osservazioni i parametri minerali presi in considerazione si sono mantenuti su livelli fisiologici. La calcemia è risultata leggermente superiore a quanto riportato dagli Autori precedentemente citati ma ha sempre mantenuto un rapporto fisiologico con gli altri elementi del metabolismo osseo (P e Mg). La nostra ricerca ha mostrato come, attraverso un adeguato trattamento farmacologico, vengano migliorate le condizioni di benessere animale ed eliminate quelle possibili cause di trasmissione di patologie infettive il cui decorso può essere anche grave. I dati relativi ai parametri ematici presi in esame, in particolare degli enzimi, evidenziano una generale migliorata condizione organica a seguito dell'eliminazione dei parassiti. I valori dell'Hb e dell'ematocrito, infine, ribadiscono come la popolazione di asini bianchi, presenti sull'isola dell'Asinara, mostri un particolare stato carenziale riconducibile, oltre all'effetto dei parassiti ematofagi, ad una pregressa condizione di insufficienza del pascolo dell'isola in alcuni elementi minerali. In conclusione per una corretta gestione di questo interessante patrimonio animale del parco dell'Asinara è auspicabile un continuo monitoraggio che tenga conto delle condizioni sanitarie e metaboliche-nutrizionali al fine di migliorarne il benessere che, di certo, si rifletterà positivamente sul potenziale riproduttivo, elemento indispensabile per la sua conservazione.

## 5. Ringraziamenti

Lavoro eseguito con contributo finanziario M.U.R.S.T. ex quota 60%. Si ringrazia l'Azienda Foreste Demaniali della R.A.S. e il Comitato di Gestione Provvisoria del Parco Nazionale dell'Asinara per la collaborazione prestata.

## Bibliografia

BALBO T. (1991) - *Presupposti, significato e limiti dell'eco-*

*patologia nell'attuale contesto territoriale e culturale del nostro paese. Gestione e protezione del patrimonio faunistico.* Edito a cura dell'Istituto per la qualificazione e l'aggiornamento tecnico-professionale in agricoltura. Brescia: 13-25.

- CAVALLONE E., GREPPI G., POZZA P. & BARELLI A. (1988) - *Enzimologia nell'equino.* *Summa* 5: 207-215
- CUBEDDU G. M., BINI P. P., FLORIS B., CARCANGIU V. & PINTORI G. (1991) - *Costanti ematiche dell'Asinello bianco dell'Asinara.* *Boll. Soc. It. Biol. Sper.*, 67: 577-584.
- CUBEDDU G. M. & PINTORI G. (1995) - *Ulteriori osservazioni sulla ehrlichiosi bovina in Sardegna.* *Acta Medica Veterinaria*, 41 (4): 357-362.
- FERLAZZO A., PANZERA M., BALBO S. M. & CAOLA G. (1983) - *Su alcuni parametri ematochimici in Equus asinus L. Influenza dello stress da trasporto.* *La Clin. Vet.* 106: 238-241
- GREPPI G. F. & SERRANTONI M. (1993) - *Diagnostica chimico-clinica e profilo metabolico nel cavallo.* *Summa* 4: 53-59
- LANFRANCHI P. (1991) - *Parassiti e gestione sanitaria del patrimonio faunistico. Gestione e protezione del patrimonio faunistico.* Edito a cura dell'Istituto per la qualificazione e l'aggiornamento tecnico-professionale in agricoltura. Brescia: 269-282.
- NAITANA S., LEDDA S., LOI P., BOMBOI G. & FALCHI S. (1988) - *Osservazione preliminare sullo status del muflone nell'isola dell'Asinara attraverso il profilo metabolico.* *La Clin. Vet.* 3: 158-162
- NEVEU-LEMARIE M. (1938) - *Traité d'entomologie médicale et vétérinaire.* Vigot frères éditeurs, Paris.
- PINNA W., VACCA G. M., CUBEDDU G. M., PINTORI G. & GARIPPA G. (1994) - *Salvaguardia degli asinelli bianchi dell'Asinara: risultati di un controllo delle parassitosi.* *Atti del Convegno Nazionale: Ecopatologia della Fauna Selvatica.* Bologna 15-17 dicembre: 105-110.
- STARKOFF O. (1958) - *Ixodoidea d'Italia.* Ed. Il pensiero scientifico.
- TROMBETTA M. F., GHEDI A. M. & FALASCHINI A. F. (1992) - *Variazioni indotte dalla somministrazione periodica di olio di sesamo sul profilo metabolico di asini somali.* *Archivio Veterinario Italiano*, 42: 228-237.
- VACCA G. M., PINNA W., MANCA M. & LAI P. (1994) - *Parametri ematochimici dell'Asino di razza sarda.* *Atti S.I.S.Vet.*, XLVIII: 1817-1820.
- VACCA G. M., CARCANGIU V., CUBEDDU G. M., Ghibellini A. & BINI P. P. (1998) - *Variazioni stagionali del profilo minerale ematico in capre allevate nell'isola dell'Asinara.* *Atti VI Congresso Fe.Me.S.P.Rum. Postojna 14-16 maggio 1998.*
- VACCA G. M., CUBEDDU G. M., CARCANGIU V., Ghibellini A. & BINI P. P. (1998) - *Profilo metabolico di asini bianchi dell'Asinara nel primo anno di vita.* *Atti IV Congresso Nazionale Biodiversità: Germoplasma locale e sua valorizzazione.* Alghero 8-11 settembre.
- ZINKL J. G., MAE D., MERIDA P. G., FARVER T. B. & HUMBLE J. A. (1990) - *Reference ranges and the influence of age sex on haematologic and serum biochemical values in Donkeys (Equus asinus).* *Am. J. Vet. Res.*, 51: 408-413.

# PARAMETRI EMATOCHIMICI DI ALCUNE SPECIE DI UCCELLI SELVATICI PRESENTI IN SARDEGNA

Contini M. S. \*, Atzeni A.\*\*

\*Facoltà di Veterinaria, via Vienna 2 - Sassari

\*\*via Archimede 9 - Cagliari

**Riassunto** - Vengono presentati 11 parametri ematochimici relativi a 29 uccelli selvatici presenti in Sardegna, pervenuti al Centro Zoiatrico di Bonassai (SS) per varie patologie. La variabilità intra e interspecifica, riscontrata anche da altri Autori, è da addebitare alle diverse condizioni degli animali. Viene sottolineato il ruolo dei Centri di Recupero per la Fauna Selvatica nella definizione di parametri di riferimento, utili nella formulazione della diagnosi.

**Abstract - Wild birds in Sardinia: some blood parameters.** Between 1995 and 1997, eleven clinical parameters were determined in the blood of 29 birds in the "Wild Animal Recovery Center of Bonassai" (Sardinia). Intra and interspecific variability as reported by other authors was due to age, sex, pathological and seasonal differences among birds. Wild Animal Recovery Centers can play a very important role in establishing the reference values of clinical serum chemistries, useful for veterinary diagnosis.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 211 - 213

## 1. Introduzione

I parametri ematochimici possono dare un notevole aiuto nella formulazione della diagnosi, permettendo di evidenziare anche patologie subcliniche altrimenti non rilevabili. Tuttavia i dati relativi alle specie selvatiche sono ancora poco conosciuti, anche per la difficoltà di reperire campioni di sangue. Scopo di questo lavoro è dare un contributo, seppure modesto, alla raccolta di dati che permetta di stabilire i parametri ematochimici di riferimento per gli uccelli selvatici.

## 2. Metodi

Sono stati esaminati 11 parametri ematochimici relativi a 29 individui appartenenti a 15 specie di uccelli selvatici presenti in Sardegna, pervenuti al Centro Zoiatrico di Bonassai (SS) negli anni 1995-1997. Il campione di sangue, prelevato al mattino dalla vena brachiale prima dell'induzione anestesiológica, veniva posto in una provetta con EDTA e miscelato delicatamente per evitare la formazione di coaguli e l'emolisi ed esaminato con il Reflotron Boehringer Mannheim.

## 3. Risultati e Discussione

In tab. 1 sono illustrati, per ognuna delle specie, i parametri esaminati, il numero dei campioni e, ove consentito, media, deviazione standard e range dei valori ottenuti. Si può notare che nei rapaci notturni i valori del glucosio sono, generalmente, più bassi che nelle

altre specie: questo si spiega col diverso metabolismo legato alle differenti abitudini di vita. La variabilità, riscontrata anche da altri Autori (Levandowski *et al.*, 1986; Di Modugno *et al.*, 1992) sia tra diverse specie che tra individui della stessa specie, è da attribuire alle differenti condizioni degli animali esaminati: età, sesso, patologie, stagionalità, alimentazione, etc. I dati presentati non sono certo sufficienti per stabilire in modo chiaro i valori di riferimento dei parametri ematochimici considerati, tuttavia riteniamo possano costituire un utile, benchè modesto, contributo in questo campo. Occorre raccogliere ulteriori dati sulle stesse e su altre specie per definire in modo univoco tali parametri, sia in condizioni fisiologiche che, perlomeno, in quelle patologiche più frequenti. In questo senso i Centri di Recupero per la Fauna Selvatica possono svolgere un ruolo insostituibile sia nella raccolta che nell'elaborazione dei dati.

## Bibliografia

- DI MODUGNO G, SOTTILI R. & RICCI V. (1992) - Parametri ematologici e ematochimici in alcune specie di rapaci diurni e notturni. *Atti I Seminario Nazionale Centri di recupero Avifauna.*
- LEVANDOWSKI AH, CAMPBELL T.W. & HARRISON G.J. (1986) - Clinical chemistries. In: Harrison & Harrison, *Clinical Avian Medicine and Surgery.* Saunders.

Tab. 1

SPECIE	N	GLUCOSIO(mg/dl)			N	UREA(mg/dl)		
		media	dev std	range		media	dev std	range
Airone cenerino	3	96,90	114,77	10-227	1	22,40		
Aquila reale	1	22,40			1	20		
Barbagianni	3	38,43	24,98	10-56.9	3	31,23	18,59	20-52.7
Corvo imperiale	1	20,80			1	20		
Falco di palude	2	126	164,04	10-242	2	20	0	20
Falco pellegrino	2	72,50	88,38	10-135	2	20	0	20
Gabbiano reale	1	10						
Garzetta	1	311			1	66,20		
Gheppio	4	303	241,81	10-563	4	23,32	6	20-32.3
Grifone	2	247,50	137,88	150-345	1	22,10		
Gufo comune	1	10						
Gufo di palude	1	10			1	22		
Nibbio reale	1	168			1	20		
Poiana	5	144,78	112,27	20-298	5	20,48	0,66	20-21.3
Volpoca	1	10			1	20		

SPECIE	N	COLESTEROLO(mg/dl)			N	TRIGLICERIDI(mg/dl)		
		media	dev std	range		media	dev std	range
Airone cenerino	2	100	0	100	2	84,20	20,08	70-98.4
Aquila reale	1	354			1	123		
Barbagianni	3	137,67	44,66	100-187	3	70	0	70
Corvo imperiale	1	100			1	70		
Falco di palude	2	140,50	57,27	100-181	2	72,90	4,10	70-75.8
Falco pellegrino	1	109			2	70	0	70
Gabbiano reale	1	100			1	70		
Garzetta	1	112			1	70		
Gheppio	4	149,25	48,85	100-168	4	100,75	33,21	70-143
Grifone	1	165			1	83,90		
Gufo comune								
Gufo di palude	1	100			1	70		
Nibbio reale	1	199			1	80		
Poiana	5	144,40	70,33	100-261	5	70,20	0,22	70-71
Volpoca	1	134			1	70		

SPECIE	N	GOT(U/l)			N	GPT(U/l)		
		media	dev std	range		media	dev std	range
Airone cenerino	3	144	38,20	114-187	3	10,24	3,42	6.41-13
Aquila reale	1	1590			1	45,70		
Barbagianni	3	151,60	161,58	8.8-327	3	33,67	17,98	17.8-53.2
Corvo imperiale	1	2			1	2,50		
Falco di palude	2	107	144,25	5-209	2	16	15,56	5-27
Falco pellegrino	1	85,20			1	19		
Gabbiano reale	1	118			1	18		
Garzetta	1	327			1	10,90		
Gheppio	4	124	106,25	5-259	4	28,35	21,29	5-47.8
Grifone	2	112,95	77,43	58.2-167.7	2	7,60	5,65	3.61-11.6
Gufo comune								
Gufo di palude	1	2			1	17,20		
Nibbio reale	1	38,30			1	33,19		
Poiana	5	162,22	120,34	72.1-368	5	23,16	13,15	10.2-22.5
Volpoca	1	32,90			1	16,50		

SPECIE	N	AC. URICO(mg/dl)			N	CREATININA(mg/dl)		
		media	dev std	range		media	dev std	range
Airone cenerino	3	7,04	4,25	3.18-11.6	1	0,50		
Aquila reale	1	6,76			1	0,50		
Barbagianni	3	6,73	3,55	4.25-10.8	2	0,50	0	0,5
Corvo imperiale	1	2						
Falco di palude	2	4,19	5,92	2-6.38	2	0,69	0,26	0.5-0.87
Falco pellegrino	2	4,13	3,01	2-6.27	1	1,79		
Gabbiano reale	1	5,20			1	0,50		
Garzetta	1	2						
Gheppio	4	5,03	3,76	2-9.92	4	1,04	0,53	0.5-1.73
Grifone	1	5,91			2	0,65	0,2	0.5-0.79
Gufo comune					1	0,50		
Gufo di palude	1	4,24			1	0,50		
Nibbio reale	1	2			1	1,15		
Poiana	5	5,76	3,57	3.03-11.8	4	0,54	0,23	0.5-0.58
Volpoca	1	14,9			1	0,50		

SPECIE	N	Hb(g/dl)		
		media	dev std	range
Airone cenerino	2	5	0	5
Aquila reale	1	13		
Barbagianni	1	5		
Corvo imperiale	1	5		
Falco di palude				
Falco pellegrino				
Gabbiano reale				
Garzetta	1	5		
Gheppio				
Grifone	2	8,35	4,74	5-11.7
Gufo comune				
Gufo di palude	1	5		
Nibbio reale				
Poiana	1	8,37		
Volpoca				

SPECIE	N	GGT(U/l)			N	BILIRUBINA(mg/dl)		
		media	dev std	range		media	dev std	range
Airone cenerino	1	2,80			2	1,28	1,09	0.5-2.05
Aquila reale	1	5			1	1,75		
Barbagianni	3	4,27	1,27	2.8-5	3	1,23	0,64	0.5-1.67
Corvo imperiale	1	2,80			1	0,50		
Falco di palude	2	5	0	5	2	0,80	0,42	0.5-1.09
Falco pellegrino	1	10,40			2	1,07	0,81	0.5-1.64
Gabbiano reale	1	2,80			1	1,53		
Garzetta	1	2,80			1	0,97		
Gheppio	4	5	0,18	4.8-5.2	4	0,71	0,30	0.5-1.14
Grifone	1	5			2	0,75	0,34	0.51-1
Gufo comune					1	4,86		
Gufo di palude	1	64,40			1	0,50		
Nibbio reale	1	5			1	0,82		
Poiana	4	5,37		2.8-8.69	5	1,12	0,72	0.5-2.26
Volpoca	1	2,8			1	0,93		



# STATO SANITARIO DI UNA POPOLAZIONE DI GABBIANO REALE NIDIFICANTE NELLE VALLI DI COMACCHIO

Defranceschi A.\*, Fasola M.\*\*\*, Grilli G.\*, Ferretti E.\*\*\*, Gallazzi D.\*

\* Dip. di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Università degli Studi di Milano, Via Celoria 10 – 20133 Milano

\*\* Dipartimento di Biologia Animale, Piazza Botta 9, 27100 Pavia, Italy

\*\*\* Istituto Zooprofilattico della Lombardia e dell'Emilia – Reparto Chimico – Brescia.

**Riassunto** - Su 55 esemplari di Gabbiano reale (*Larus cachinnans*) adulti in cova, catturati nelle Valli di Comacchio nell'ambito di un test di riduzione programmata della specie, sono stati condotti esami necroscopici, tossicologici, parassitologici e immunoenzimatici. Al tavolo anatomopatologico lo stato di nutrizione è risultato buono o ottimo nell'87% degli individui, sufficiente nel 9% e scarso solo nel 4%. Le lesioni maggiormente riscontrate sono state: lieve splenomegalia nel 24% del campione e antracosi polmonare (7,3%). Su 10 campioni sono stati ricercati residui di sostanze tossiche: a livello di tessuto epatico sono state rilevate concentrazioni di cadmio variabili tra 0,02 e 0,06 mg/kg e di piombo tra 0,04 e 0,21 mg/kg, a livello di tessuto renale concentrazioni di cadmio variabili da 0,14 e 0,46 mg/kg e di piombo tra 0,1 e 0,56 mg/kg; a livello di tessuto adiposo concentrazioni di p-p'DDE variabili da 0,36 a 9,03 mg/kg mentre sono risultati inferiori a 0,01 mg/kg i pesticidi clorurati. La prevalenza dei singoli parassiti intestinali è risultata: famiglie *Hymenolepididae* e *Dilepididae* (65%), *Himastha militaris* (58%), *Diplostomum spp.* (31%), *Cardiocephalus longicollis* (7,2%). All'indagine immunoenzimatica specifica (Elisa) per *Chlamydomyxa spp.*, condotta su 25 campioni di tessuto epatico, è risultato positivo con alto titolo l'8% del campione. Questi risultati sono sostanzialmente in accordo con quelli riscontrati in altre specie di Laridi (a parte l'assenza di nematodi intestinali). Nonostante la confermata presenza di infezioni/intossicazioni latenti nel Gabbiano reale, la specie, estremamente adattabile, e in espansione.

**Abstract** - Health status of Yellow-legged Gull (*Larus cachinnans*) nesting at Comacchio lagoon, Northeastern Italy. Post-mortem, toxicological, parasitological and bacteriological examinations were carried out on 55 adult Yellow-legged Gulls (*Larus cachinnans*), collected at Comacchio lagoon. 87% of the birds had a good or very good body condition score, and only 4% a poor condition. The main gross lesions were: enlarged spleen (24%) and pulmonary anthracosis (7.3%). Cadmium and lead concentrations were measured in 10 samples of liver and kidney, and organochloride insecticides in fat samples. Cadmium levels varied from 0.02 mg/kg to 0.06 mg/kg in liver, and 0.14-0.46 mg/kg in kidney. Lead levels varied from 0.04 mg/kg to 0.21 mg/kg in liver, and 0.10-0.56 mg/kg in kidney. p-p' DDE (0.36-9.03 mg/kg) was detected in fat. The levels of other insecticides were very low. *Hymenolepididae* and *Dilepididae* (65%), *Himastha militaris* (58%), *Diplostomum spp* (31%), *Cardiocephalus longicollis* (7.2%) were found. A specific immunoenzymatic test (Elisa) on 25 samples of liver tissue was positive to *Chlamydomyxa spp.* for 8% of the birds.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 215 - 220

## 1. Introduzione

Il Gabbiano reale (*Larus cachinnans*) è specie in forte espansione in Europa. L'unica popolazione nidificante monitorata in Italia, nelle Valli di Comacchio, ha avuto un incremento del numero di coppie nidificanti del 20% annuo dal 1990-1994 (Brichetti *et al.* 1999). Questo incremento può comportare competizione con altre specie di maggior pregio naturalistico e inoltre rende opportuno un monitoraggio sanitario rivolto ad una specie sempre più vicina alle attività ed agli insediamenti umani. Attualmente la letteratura relativa allo stato sanitario del Gabbiano reale è scarsa. Solo per le salmonellosi esistono studi sufficienti a chiarire il ruolo che questi uccelli nella trasmissione, mentre è assolutamente insufficiente per gli

aspetti da noi considerati in questo lavoro e cioè: lo stato sanitario della popolazione adulta nidificante, la presenza di metalli pesanti e pesticidi, che possono derivare sia dalle prede sia dai rifiuti urbani raccolti nelle discariche, la prevalenza nella popolazione di *Chlamydomyxa spp.* e lo studio qualitativo e quantitativo dei parassiti intestinali, alcuni dei quali di interesse zoonosico.

## 2. Materiali e metodi

Gli esemplari esaminati sono stati raccolti nell'ambito di un test di riduzione della popolazione, condotto in due isolotti posti al centro delle Valli di Comacchio (Prov. Ferrara). Per la cattura degli adulti in cova è stata utilizzata un'esca con alfa-cloralosio, un composto narco-

tico che non determina lesioni anatomicopatologiche di rilievo, non interferendo pertanto con le successive analisi. Sono stati esaminati 55 individui.

Ciascun individuo è stato misurato a fresco per: massa corporea (mediante dinamometro), ala destra e sinistra, becco e tarso.

L'esame necroscopico è stato eseguito accuratamente, in tempi rapidi e secondo i canoni tradizionali dell'anatomia patologica, rilevando: il sesso all'esame degli organi genitali, lo stato di nutrizione valutando dal punto di vista qualitativo lo spessore del grasso corporeo ed assegnando a ciascun soggetto un giudizio: scarso, sufficiente, buono ed ottimo, e le lesioni anatomicopatologiche macroscopicamente evidenti. Per le osservazioni parassitologiche, il contenuto intestinale è stato setacciato con filtri a diametro progressivamente ridotto fino a 40 micron. I singoli parassiti sono stati isolati allo stereomicroscopio e conservati in alcool etilico al 70% in attesa della tipizzazione. I nematodi sono stati chiarificati con lattofenolo. I plattelminti sono stati colorati con la colorazione tricromica di Horen. I parassiti sono stati identificati secondo le chiavi e le descrizioni fornite da Anderson *et al.* (1974).

Sono stati prelevati, da un sub-campione di 10 individui scelti a caso, frammenti di tessuto adiposo, epatico e renale, inviati al Dipartimento Chimico dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia di Brescia. Per mettere in eventuale evidenza la presenza di residui di sostanze tossiche ampiamente diffuse nell'ambiente marino e terrestre. In particolare sono state misurate le concentrazioni di:

- Piombo e Cadmio, come indicatori di inquinamento da carburanti, in fegato e rene
- Para-para DDE (metabolita remoto del DDT) e pesticidi clorurati (Alfa-HCH, Beta-HCH, Gamma-HCH, Aldrin, Dieldrin, Endrin, eptacoloro, eptacoloro epossido, esaclorobenzene, DDT totale, alfa-endosulfan, beta-endosulfan, metossicloro) nel tessuto adiposo.

Per la ricerca di *Chlamydomyxa* spp., su 25 campioni di tessuto epatico è stato condotta un'indagine immunoenzimatica in tecnica Elisa utilizzando il kit *Chlamydomyxa* Microplate EIA.

### 3. Risultati

#### 3.1. Morfometria

Il peso era variabile per i maschi da 1010 a 1390 g, con una media di 1137 g, e, per le femmine, da 810 a 1080 g, con una media di 930 g. Tra le due ali si è riscontrata una perfetta sim-

metria, con lunghezza media dell'ala di 46 cm nei maschi e di 44 cm nelle femmine. La lunghezza media del tarso era di 71 mm nei maschi e di 65 mm nelle femmine, e la lunghezza del becco era di 75 mm per i maschi e 69 mm per le femmine.

#### 3.2. Esame necroscopico

Il campione era costituito da 26 maschi e 29 femmine. Lo stato del piumaggio era ottimo in tutti gli individui e non sono stati riscontrati ectoparassiti sulla cute o sulle penne. Lo stato di nutrizione era buono o ottimo nell'87% degli individui, sufficiente nel 9% e scarso solo nel 4%. Lo stato sanitario degli individui si è rivelato più che buono, nonostante le parassitosi intestinali presenti nella quasi totalità dei soggetti (96,4%). Aumento di volume della milza è stato riscontrato nel 24% dei campioni. Dodici individui (21,8%) presentavano un edema polmonare acuto, mentre un lieve stato di antracosi polmonare era presente in 4 individui (7,3%).

#### 3.3. Parassiti intestinali

All'interno del nostro campione solo 2 individui su 55 non presentavano alcun parassita intestinale macro-microscopico, mentre tutti gli altri sono risultati parassitati da almeno una specie. Sono stati rinvenuti esclusivamente plattelminti, appartenenti alla classe dei Cestoda e dei Trematoda. Per i cestodi reperiti, la mancanza di proglottidi mature e il pessimo stato di conservazione della carcassa non hanno permesso l'identificazione della specie di appartenenza. È stato comunque possibile, soprattutto sulla base delle dimensioni, ipotizzarne l'inquadramento all'interno delle famiglie Dilepididae e Hymenolepididae. I cestodi rappresentano la classe presente con maggiore frequenza all'interno della nostra popolazione, dato che sono stati riscontrati nel 65,5% degli individui. La maggior parte dei gabbiani ospitava da 5 a 10 elminti, ma 4 individui ne presentavano addirittura 30, valore massimo presente nel campione considerato. Tra i trematodi, molto diffusa è risultata *Himasthla militaris*, appartenente alla famiglia degli *Echinostomatidae*, che era presente nel 58% degli individui; il numero di parassiti per individuo era estremamente variabile ma tendenzialmente superiore alle dieci unità, fino ad un massimo di 54. *Diplostomum* spp. era presente nel 31% degli individui e nella metà dei casi in numero notevole, variabile tra le 20 e le 50 unità. Da ultimo e solo in 4 gabbiani (7,3%), sono stati riscontrati pochi esemplari di *Cardiocephalus longicol-*

lis, trematode appartenente alla famiglia degli *Strigeidae*.

### 3.4. Clamidiosi

All'indagine immunoenzimatica specifica (Elisa) sono risultati positivi con alto titolo i fegati di 2 individui, pari all'8% del campione.

### 3.5. Residui di sostanze tossiche

Sono risultati presenti in tutti i campioni esaminati, anche se in quantità non allarmante. Sono stati misurate concentrazioni superiori a 0,01 mg/kg in tutti i campioni per il piombo, il cadmio ed il p-p' DDE, e valori inferiori allo 0,01 mg/kg per i pesticidi clorurati, sempre sul totale dei campioni. Il cadmio, che viene chelato a livello epatico ed accumulato a livello renale, è stato rilevato in concentrazioni maggiori in quest'ultimo organo: la concentrazione epatica variava da 0,02 a 0,06 mg/kg, mentre quella renale da 0,14 a 0,46 mg/kg. Anche la concentrazione di piombo è risultata elevata e varia da 0,04 a 0,21 mg/kg a livello epatico e da 0,1 a 0,56 mg/kg a livello renale. Il p-p' DDE, metabolita remoto del DDT convertito come tale dalla DDT-deidroclorinasi, era presente in concentrazioni da 0,36 a 9,03 mg/kg nel tessuto adiposo, dove, trattandosi di una molecola lipofila, tale metabolita si accumula. Tutti i pesticidi clorurati, compreso il DDT, sono invece risultati assenti.

## 4. Discussione

### 4.1. Parametri morfometrici

I valori medi da noi riscontrati non si discostano in maniera significativa dai parametri standard riportati in letteratura (Cramp & Simmons, 1982), sia per il peso che per le lunghezze di tarso, becco e ali.

### 4.2. Esame necroscopico

L'ottimo stato del piumaggio e l'assenza di ectoparassiti confermano ancora una volta il buono stato di salute della popolazione da noi esaminata. La totale assenza di ectoparassiti è un dato sorprendente se confrontato con quelli normalmente riscontrati sia negli Anatidi selvatici catturati in Italia (Pozzi 1997) sia ancor più nei passeriformi stanziali o migratori (Riva *et al.* 1996). E' vero che la vita acquatica e soprattutto la salinità marina potrebbero ostacolare la crescita di acari delle penne e di ectoparassiti in genere, ma risulta comunque di difficile interpretazione il dato relativo alla mancanza di parassiti della cute quali i mallofagi. Questi sono risultati presenti nella quasi tota-

lità degli Anatidi esaminati da Pozzi (1997) nelle acque del lago di Como, benché in quantità molto basse. Non è da escludere, nei campioni da noi esaminati, che il lasso di tempo trascorso tra la cattura e l'esame approfondito della carcassa abbia alterato il carico di parassiti esterni, essendo noto che i mallofagi abbandonano l'ospite dopo la morte in corrispondenza dell'abbassamento della temperatura corporea.

Per lo stato di nutrizione, il buono stato di salute della maggior parte degli individui era un risultato prevedibile trattandosi di individui in riproduzione, ma è significativo per gli scopi della nostra ricerca, dato che si tratta degli stessi individui che nella stagione invernale possono raggiungere le città, gli immondezzai e le discariche. Il rapporto tra i sessi nel campione è risultato equilibrato. La lieve maggior prevalenza di individui di sesso femminile è da imputare al fatto che le femmine sono state probabilmente le prime a tornare al nido dopo che ci siamo allontanati dagli isolotti e ad aver avuto quindi accesso alle esche. La presenza comunque di un numero molto elevato di maschi indica come la cova in questa specie sia compiuta da entrambi i sessi.

Per le lesioni anatomopatologiche, considerando che in generale gli animali esaminati possono essere considerati in uno stato sanitario soddisfacente, l'alta percentuale di individui con splenomegalia indica come questi uccelli selvatici siano esposti di frequente a diversi tipi di patogeni, che inducono una sollecitazione immunitaria caratterizzata da diffusa mobilitazione di elementi del SRE e da iperplasia dei follicoli linfatici (splenomegalia iperplastica). L'edema polmonare acuto va invece probabilmente interpretato come una conseguenza della difficoltà respiratoria pre-exitus, visto che una simile lesione è stata descritta nel cane in seguito ad anestesia con alfa-cloralosio (Maron, 1985). L'antracosi, dovuta ad inalazione di particelle carboniose presenti nel pulviscolo atmosferico, rilevata in 4 individui, può essere indicativa del fatto che molti gabbiani trascorrono la maggior parte dell'anno in ambienti sub-urbani o urbani e sono quindi esposti all'inquinamento atmosferico di tali aree.

### 4.3. Parassiti Intestinali

Gli esami parassitologici condotti hanno permesso di evidenziare la larga diffusione dei parassiti intestinali all'interno della popolazione di Gabbiano reale da noi esaminata; tuttavia, una completa interpretazione dei dati è resa difficile dall'assenza di precedenti studi in

tal senso. Anche su specie dello stesso genere, gli studi esistenti infatti si limitano tendenzialmente alla segnalazione di singole specie piuttosto che approfondire il ruolo patologico dei parassiti e le biocenosi esistenti. Le specie reperite nella nostra ricerca sono state tutte segnalate in diversi Laridi (Helluy, 1984, Roca *et al.*, 1999, Smikova *et al.*, 2003) e possono quindi essere ritenute specifiche del genere. Negli animali adulti esaminati in questa ricerca gli elminti maggiormente presenti sono risultati i cestodi (65,5%), appartenenti alle famiglie *Hymenolepididae* e *Dilepididae*.

Confrontando questi risultati con quelli ottenuti da Stancampiano *et al.* (1994) nel Gabbiano comune, non si ha modo di incontrare alcuna similitudine, in quanto, quando e se presenti, i cestodi in generale prevalevano negli individui immaturi. Tale situazione è spiegata da Roca *et al.* (1999) come conseguenza della dieta ittica non selettiva del gabbiano comune. La mancanza di omogeneità nei risultati va evidentemente riferita alla grande varietà degli ambienti frequentati, -terrestre, marino, di acqua dolce-, nei quali il gabbiano può trovare e nutrirsi dell'ospite intermedio. Lo stesso si può dire per quanto concerne le diverse specie di trematodi reperite. In particolare per *Himasthla militaris* e *Cardiocephalus longicollis*, presenti rispettivamente nel 58% e nel 7,3% del campione, si sa che il ciclo indiretto viene completato in ambiente marino, mentre per il genere *Diplostomum* (31%) il ciclo è legato ad ambienti di acqua dolce. Nella presente casistica mancano completamente parassiti intestinali molto comuni negli uccelli quali i nematelminti ed i coccidi. Mentre per questi ultimi la spiegazione più plausibile potrebbe essere ricondotta alla età adulta dei gabbiani esaminati, che generalmente comporta una buona o completa immunità raggiunta nei confronti dei protozoi intestinali, per quanto riguarda l'assenza di vermi tondi non resta che constatare la differenza con quanto riferito nel più volte citato lavoro di Stancampiano *et al.* (1994) che aveva riscontrato diverse specie di nematodi. La frequenza delle osservazioni di questi ultimi è risultata in genere molto elevata, tanto da risultare una prevalenza per *Capillaria* superiore all'80% ed a farla ascrivere alle specie parassite dominanti in entrambe le aree considerate da quegli Autori. Per il sesso degli animali parassitati non sono state riscontrate differenze significative. A fronte di alti e costanti livelli di parassitismo, le lesioni anatomicopatologiche e lo stato di nutrizione degli

individui esaminati non risultano comunque influenzati o modificati, bisogna pertanto concludere che l'azione patogena dei parassiti è stata pressoché nulla, in quanto si è evidentemente instaurato uno stabile equilibrio nel rapporto ospite-parassita. Va inoltre da ultimo rimarcato che *Cardiocephalus longicollis* ed i parassiti del genere *Diplostomum* sono stati segnalati come potenziali agenti di zoonosi (Palmieri *et al.* 1976).

#### 4.4. Clamidiosi

A dispetto delle segnalazioni di Meyer (1968) che negli USA indicava i gabbiani come gli uccelli selvatici maggiormente interessati dall'infezione da *Chlamydophila* sp., nella nostra ricerca si è riscontrato solo l'8% di positività. Ciò dimostra come la *Chlamydophila* sp. risulti comunque diffusa in ambito selvatico e come i gabbiani, anche in virtù della loro tendenza a spostarsi ed occupare ambienti molto diversi tra loro, rappresentino un potenziale veicolo di tale patogeno per gli animali d'allevamento, per quelli d'affezione e per l'uomo. Un fenomeno del tutto recente, anche in Italia, è la tendenza da parte dei Laridi ad occupare ambienti urbani, venendo così in contatto con la popolazione di colombi torraioli, che da sempre sono indicati come il serbatoio di *Chlamydophila psittaci* nelle città.

Recentemente, proprio nei piccioni di Milano, Schmidt (1997) ha riscontrato una positività analoga (12%) di portatori di *Chlamydophila psittaci*. E' probabile che l'incontro tra le due popolazioni di uccelli comporti anche uno scambio di sierotipi differenti di *Chlamydophila psittaci* che, almeno inizialmente, vedrà il sopravvento di quelli più patogeni e questo deve mettere in allerta il Servizio Sanitario per il probabile aumentato rischio di zoonosi. Nel nostro campione va però sottolineato che il primo dei due individui positivi presentava all'esame anatomicopatologico solo una lieve splenomegalia, comune peraltro al 24% degli individui, ed un buono stato di nutrizione, mentre il secondo mostrava un ottimo stato di nutrizione e l'assenza di parassiti intestinali. Pertanto tali individui vanno indubbiamente considerati portatori asintomatici dell'infezione, dato che questa non ha influito sul loro stato sanitario.

#### 4.5. Residui di sostanze tossiche

In generale l'esame tossicologico, per quanto l'esiguità del campione non consenta di trarre considerazioni specifiche, ha mostrato un grado

di presenza di residui di metalli pesanti e pesticidi che è sostanzialmente analogo a quello di altri lavori pubblicati sull'argomento e sull'avifauna selvatica (Pastor *et al.* 1995, Sanpera *et al.* 1997, Benkoel *et al.* 2000, Albanis *et al.* 2003, Naso *et al.* 2003). Dato che tali sostanze si accumulano progressivamente ai vari livelli della catena alimentare ed i gabbiani possono essere considerati sicuramente al vertice di questa, il dato supporta l'idea che gli uccelli piscivori possano essere buoni indicatori dell'inquinamento degli ecosistemi marini. L'area di raccolta dei campioni è sicuramente soggetta a differenti tipi d'inquinamento per la presenza del vicino polo industriale del ravennate, per la vicinanza a coltivazioni intensive che fanno largo uso di pesticidi e per l'accumulo, di ancor maggiore importanza, di acque reflue dal delta del fiume Po che raccoglie nel suo percorso scarichi inquinanti di diversa natura e provenienza. L'assenza di residui di pesticidi clorurati e la presenza invece di un metabolita remoto del DDT, quale il para-para DDE, indica come la messa al bando di tali pesticidi, iniziata a partire dal 1973, abbia avuto effetti positivi sulla eliminazione dalla biosfera di un composto estremamente tossico e notevolmente stabile, dato che ancor oggi si ritrova nell'ambiente il residuo della sua degradazione. L'esame gas-cromatografico effettuato per la ricerca dei pesticidi clorurati ha riguardato prodotti anche pericolosi come il dieldrin, l'endrin e l'esaclorobenzene, che non sono stati riscontrati. Per quanto da tempo fuorilegge non era però escluso che potesse esserne ancora fatto un uso fraudolento.

## 5. Conclusioni

Il Gabbiano reale è oggi una specie in esponenziale espansione in Europa e in Italia. Ciò ha portato, da un punto di vista ecologico, ad un notevole svantaggio per specie di maggior pregio naturalistico ed in generale per la biodiversità dei nostri ambienti naturali. L'attività di predazione da parte di questa specie nei confronti dei pulcini di altre specie di Laridi e di altri uccelli acquatici, nonché l'occupazione fisica dei migliori siti di nidificazione, mette oggi in pericolo gli equilibri delle zone umide mediterranee. Le ragioni del successo evolutivo del Gabbiano reale vanno individuate nella sua grande capacità di adattamento alle modificazioni ambientali sia naturali che indotte dall'uomo. La possibilità di alimentarsi, durante la stagione invernale, presso immondezze e discariche, la relativa confidenza con l'uomo, che lo portano ad alimentarsi presso gli allevamenti

ittici, nei porti e dai pescherecci ed a nidificare persino sui tetti delle abitazioni, gli garantiscono una buona sopravvivenza. Dal punto di vista sanitario, pur con i limiti rappresentati dalla difficoltà di raccolta e di conservazione del campione e dalle limitate indagini eseguite, la nostra ricerca ha evidenziato alcuni importanti elementi che riteniamo di poter sintetizzare nei seguenti punti:

- il Gabbiano reale alberga diverse specie di parassiti, alcuni dei quali hanno un ciclo indiretto con i pesci come ospiti intermedi, che possono essere responsabili di zoonosi in determinate categorie di persone, costituendo un problema di ordine sanitario.

- i gabbiani possono svolgere un importante ruolo epidemiologico nella trasmissione, sia all'uomo che agli animali selvatici, d'allevamento e d'affezione, di una grave malattia infettiva quale la clamidiosi, che si aggiunge all'identico ruolo, ampiamente documentato in letteratura, nella diffusione della salmonellosi (Hudson & Tudor, 1957; Goodchild & Tucker, 1968; Williams, 1977; Tizard *et al.*, 1979).

- residui di pesticidi e metalli pesanti si accumulano largamente e frequentemente in questa specie, come d'altronde avviene in tutti gli animali al vertice di una catena alimentare, ma con la differenza che i gabbiani, secondo Carpenè *et al.* (1995), possono ridistribuire tali sostanze, accumulate ad esempio nelle discariche, in ambienti sub-urbani ed urbani più di quanto non possano altre specie.

La presenza di *Chlamydomphila* spp., di sostanze tossiche e di numerosi parassiti intestinali non hanno influenzato lo stato di salute della popolazione adulta da noi esaminata, pertanto l'effetto patogeno svolto da questi elementi non può modificare la dinamica di popolazione del Gabbiano reale. Tenuto conto degli aspetti ecologici, etologici e dei problemi di Sanità Pubblica, conseguenti all'aumento di popolazione del Gabbiano reale, riteniamo che sarebbe opportuno intraprendere misure volte a ridurre in modo mirato le sue popolazioni, sia limitandone l'accesso alle discariche e agli allevamenti ittici, per mezzo ad esempio di opportune reti di protezione, sia intervenendo a livello dei principali siti di nidificazione per diminuire il tasso riproduttivo. A questo proposito ricordiamo che né l'abbattimento di individui adulti, né la distruzione dei nidi ha dato finora risultati soddisfacenti, mentre la foratura delle uova, sperimentata recentemente con successo in diversi Parchi e Riserve Naturali del Nord Europa ed in Francia nel Parco Nazionale della

Camargue, ha fatto sì che gli adulti le covassero fino al limite della stagione riproduttiva senza che avvenissero né covate di rimpiazzo, né l'occupazione dei siti da parte di altri individui. In questo senso il ruolo del Veterinario di Sanità Pubblica nella gestione di una materia così multiforme e complessa appare sicuramente fondamentale ed assurge ad un vero e proprio dovere, in considerazione delle sue responsabilità di tutela della salute pubblica e di gestione del patrimonio faunistico.

## Bibliografia

- ALBANIS TA, GOUTNER V, KONSTANTINOOU IK & FRIGIS K. (2003) - Organochlorine contaminants in eggs of the yellow-legged gull (*Larus cachinnans michahellis*) in the North Eastern Mediterranean: is this gull a suitable biomonitor for the region? *Environ Pollut.* 126(2):245-55.
- ANDERSON R.C., CHABAUD A.G. & WILLMOTT S. (1974) - *CIH keys to nematode parasite of vertebrates. No. 1 General Introduction, glossary of terms, keys to subclasses, orders and superfamilies.* Farnham Royal, Slough UK.
- BENKOEEL L, DODERO F, ROUSSEL E, BAUDIN JC, LAMBERT R, CHAMLIAN A & AUGIER H. (2000) - Effect of metallic pollutants on enzyme histochemical activities of yellow-legged gull *Larus cachinnans michahellis* liver. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand).* 46(7):1183-9.
- BRICHETTI P, FASOLA M, FOSCHI UF & VOLPONI S. (1999) - Laridi e Sternidi nidificanti nelle Valli di Comacchio: dinamica di popolazione e distribuzione delle colonie in relazione alle modificazioni ambientali. *Avocetta* 23: 71.
- CARPENÈ E, SERRA R. & ISANI G. (1995) - Heavy metals in some species of waterfowl of northern Italy. *Journal of Wildlife disease*, 31: 49-56.
- CRAMP S. & SIMMONS S. (1982) - *The birds of the Western Palearctic.* Oxford University Press, Oxford.
- GOODCHILD W.M. & TUCKER J.F. (1968) - Salmonellae in British wild birds and their transfer to domestic fowl. *Br. Vet. J.*; 124(3):95-101.
- HELLUY S. (1984) - Host-parasite relations of the trematode *Microphallus papillorobustus* (Rankin 1940). III Factors involved in the behavioral changes of the *Gammarus*, intermediate hosts and predator tests. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 59(1):41-56.
- HUDSON C.B. & TUDOR B.C. (1957) - *Salmonella typhimurium* infections in feral birds, *Cornell. Vet.*, 47(3): 394-5.
- MARON M.B. (1985) - Canine model of neurogenic pulmonary edema. *J. Appl. Physiol.* 59(3):1019-25.
- MEYER K.F. (1968) - The host spectrum of *Psittacosis-lymphogranuloma venereum* (PI) agent. *Am. J. Ophthalmol.* 63:1225-1246.
- NASO B, PERRONE D, FERRANTE MC, ZACCARONI A & LUCISANO A. (2003) - Persistent organochlorine pollutants in liver of birds of different trophic levels from coastal areas of Campania, Italy. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 45(3):407-14.
- PALMIERI J.R., HECKMANN R.A. & EVANS R.S. (1976) - Life cycle and incidence of *Diplostomum sphaataceum Rudolphi* (1819) (Trematoda: Diplostomatidae) in Utah. *Great Basin Natur.*, V.36, N°1:86-96.
- PASTOR D, RUIZ X, BARCELO D. & ALBAIGES J. (1995) - Furans and AHH-active PCB congeners in eggs of two gull species from the western Mediterranean. *Chemosphere.* 31(6):3397-411.
- POZZI D. (1997) - *Indagini sulle ecto-endoparassitosi di anatidi catturati sul lago di Como.* Tesi di Laurea, facoltà di Medicina Veterinaria, Milano.
- RIVA R., GALLAZZI D., MAGNANI Z., OTTOBONI F. & MANDELLI G. (1996) - Reperimento di ectoparassiti su uccelli selvatici catturati in Lombardia. *Zootecnica International, Supplemento XXXIV Convegno Società Italiana di Patologia Aviaria - Forlì* 6-7 ottobre 1995, Anno VII giugno 1996: 142-151
- ROCA V, LAFUENTE M & CARBONELL E. (1999) - Helminth communities in Audouin's gulls, *Larus audouinii* from Chafarinas Islands (western Mediterranean). *J. Parasitol.* 85(5):984-6.
- SANPERA C, MORERA M, CRESPO S, RUIZ X & JOVER L. (1997) - Elements in clutches of Yellow-legged Gulls, *Larus cachinnans*, from the Medes Islands, Spain. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 59(5):757-62.
- SCHMITZ G. (1997) - *Osservazioni sullo stato sanitario dei piccioni di Milano.* Tesi di Laurea. Facoltà di Medicina Veterinaria, Milano.
- SIMKOVA A, SITKO J, OKULEWICZ J. & MORAND S. (2003) - Occurrence of intermediate hosts and structure of digenean communities of the black-headed gull, *Larus ridibundus* (L.). *Parasitology.* 126(Pt 1):69-78.
- STACAMPIANO L., GUBERTI V. & SERRA L. (1994) - Elminti dell'apparato digerente in due metapopolazioni di gabbiano comune (*Larus ridibundus*) svernanti in Italia. *Ric. Biol. Selvaggina*, Bologna. 93: 1-56.
- TIZARD I.R., FISH N.A. & HARMESON J. (1979) - Free flying sparrows as carriers of salmonellosis. *Can. Vet. J.* 20(5):143-4.
- WILLIAMS BM, RICHARDS DW, STEPHENS DP. & GRIFFITHS T. (1977) - The transmission of *S. livingstone* to cattle by the herring gull (*Larus argentatus*). *Vet. Rec.* 21;100(21):450-1

# ENTERIC MICROFLORA IN ITALIAN CHIROPTERA

Di Bella C.\*, Piraino C.\*, Caracappa S.\*, Fornasari L.\*\*\*, Violani C.\*\*\*, Zava B.°

\* Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia "A. Mirri", via R. Dicillo 4, 90129 Palermo, Italy.

\*\* Dipartimento di Scienze dell'Ambiente e del Territorio, Università degli Studi, via L. Emanuelli 15, 20126, Milano, Italy.

\*\*\* Dipartimento di Biologia Animale, Università degli Studi, Piazza Botta 9, 27100 Pavia, Italy.

° Wilderness, Studi ambientali, via Cruillas 27, 90146 Palermo, Italy.

**Abstract** - The authors present data obtained by bacteriological analyses of faeces collected, under sterility conditions, from 89 individual bats belonging to the following species: *Myotis daubentoni* (7), *Myotis capaccinii* (22), *Myotis myotis* (10), *Pipistrellus kuhli* (17), *Miniopterus schreibersi* (25), and *Tadarida teniotis* (8). The bats were collected from colonies in Lombardy, Emilia Romagna, Latium and Sicily. The analyses so far conducted have revealed the presence of 26 bacterial species, none of which is pathogenic to humans.

**Riassunto** - In questa breve nota vengono presentati i dati ottenuti dalle analisi batteriologiche condotte su feci, raccolte in sterilità, provenienti da 89 individui appartenenti alle seguenti specie di chiroterri: *Myotis daubentoni* (7), *Myotis capaccinii* (22), *Myotis myotis* (10), *Pipistrellus kuhli* (17), *Miniopterus schreibersi* (25), e *Tadarida teniotis* (8). I pipistrelli sono stati catturati in Lombardia, Emilia Romagna, Lazio e Sicilia. Le analisi finora effettuate hanno rivelato la presenza di ben 26 differenti specie di batteri, nessuna di esse può essere considerata patogena per l'uomo.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 221 - 224

## 1. Introduction

The Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia "A. Mirri" and Wilderness Studi ambientali have been collaborating since 1990 for the sanitary monitoring of bat colonies in the Italian territory. Their studies aim at a better knowledge and protection of these highly useful mammals. The few data available in the literature concerning the enteric microflora of bats refer almost exclusively to Neotropic and Malagasy species (Klite, 1965a, 1965b; Arata *et al.*, 1968; Mayoux *et al.*, 1970; Brygoo *et al.*, 1971; Cassel-Beraud & Richard, 1988). Data are particularly limited concerning Palearctic taxa. Pinus and Muller (1980) published a note on the enterobacteria present in the faeces of captive individuals of *Rhinolophus ferrumequinum*, *Myotis brandti*, *M. daubentoni*, *M. emarginatus*, *M. myotis* and *Nyctalus noctula*. Only recently Piraino *et al.* (1996) and Di Bella *et al.* (1997a; 1997c) have investigated the enteric microflora of bats captured in the wild. In the following list we report some ecological notes on the species which we have examined: *i.* Schreiber's Bat, *Miniopterus schreibersi* (Natterer in Kuhl, 1819). A typical troglophilous and migratory species. It forages between 5 and 20 meters from the ground, frequently far from its roosts, in open spaces or in proximity of crags. It is usually encountered in the plains and on the mountains at a low or mid altitude (we have found it in the Central

Apennines up to 1050 m), in particular in gorges of karstic origin. Hunts also on meadows and pastures. Captures moths, diptera and coleoptera.

*ii.* Daubenton's Bat, *Myotis daubentoni* (Kuhl, 1819). An erratic species; hunts on the water, catching insects on the wing, along the riparial vegetation or on land among the plants, flying over the foliage, mainly near its roosts. The largest concentrations of bats of this species can be found in plain areas, in woods and parks near water. Its displacements for feeding have normally a 2-km radius, up to 10 kms in case of hunting on rivers and canals. Besides lakes, rivers and smaller waterbodies, it frequents also broadleaved and mixed woods, as well as human dwellings near its roosts. The diet of this bat includes mainly diptera (mostly Chironomids) and trichoptera (especially *Glossomatidae*) besides insects belonging to other groups; these are generally small sized insects, and feeding takes place always in flight.

*iii.* Long-fingered Bat, *Myotis capaccinii* (Bonaparte, 1837). This species probably moves not far away from its breeding colonies; it hunts preferably on water surfaces, apparently its preferred habitat. *M. capaccinii* is considered to be a typically troglophilous species in S. Europe, but it can frequent also buildings, provided they are placed in quiet areas, and near its feeding quarters. When these bats leave the roost, they disperse immediately over water stretches,

some kilometers away. Their diet includes mainly diptera and trichoptera which are picked up from the water surface.

*iv.* Greater mouse-eared Bat, *Myotis myotis* (Borkhausen, 1797). A troglophilous species and occasional migrant. In the activity season it frequents mainly sparse woods and parks. Frequently it forages on the ground, capturing carabids, scarabs, grasshoppers, crickets and spiders. Its diet includes mainly non-flying arthropods; many investigations have found a clear predominance of Carabidae (Coleoptera); an important fraction is also represented by Orthoptera (mostly Acrididae), Diptera (Tipulidae) and Arachnida.

*v.* Kuhl's Pipistrelle, *Pipistrellus kuhli* (Kuhl, 1819). A sedentary species; it forages around the street lamps in towns, over water surfaces in gardens and in country environments. It is an essentially anthropophilous species, living at low and middle altitudes. In Italy it is the most common bat; it is less frequent in woodlands, but is normally mostly widespread in urban and semi-urban habitats, and in agricultural environments. Its reproductive colonies occupy the cracks of buildings (cornices, gutters, frames, tiles); isolated individuals have been found also in rock fissures and, occasionally, in hollow trees. It uses abandoned houses, barns, villas, historical buildings and condominiums. Its winter quarters are in buildings (probably the same ones as in summer) or natural cavities. It shares its sites with *P. pipistrellus* and *Hypsugo savii*. Hunts small flying insects, mostly lepidoptera, diptera and coleoptera.

*vi.* Free-tailed Bat, *Tadarida teniotis* (Rafinesque, 1814). A probably sedentary species; it can leave its roosts even for several kilometers. It can descend from passes or ascend from cliffs in order to reach its feeding grounds near lighted inhabited centres (even under street lamps, provided they are placed high up from the ground). Hunts also above waterbodies, describing large circles over the surface. Feeds on neuroptera and lepidoptera. Relatively common in mediterranean coastal areas, both along isolated sea cliffs and in large towns (Latina, Messina, Palermo, Reggio Calabria, Siracusa). It is also present in rocky areas on mountains, where it is apparently more rare. Recorded from the sea level up to an altitude of 2000 m. Its summer quarters are placed in rock cracks or in cliffs (also fissures in isolated large rocks), in buildings and in caves.

## 2. Materials and methods

We have examined faeces from 89 individuals belonging to two different families represented in Italy (Vespertilionidae and Molossidae). More precisely, the following numbers of bats were collected: 25 *Miniopterus schreibersi*, 7 *Myotis daubentoni*, 22 *Myotis capaccinii*, 10 *Myotis myotis*, 17 *Pipistrellus kuhli* and 8 *Tadarida teniotis*. Captures took place in the following localities:

*i.* Lombardy

1) Mixed colony with *Myotis daubentoni*, *M. nattereri* and *M. capaccinii* in a tower facing Lake Como near Lierna, Lecco. 2) Colony of *P. kuhli* in a building in Mandello sul Lario, Lecco.

*ii.* Emilia Romagna

1) Colony of *P. kuhli* in a house in the area of Boscone della Mesola, Ferrara.

*iii.* Latium

1) Mixed colony of *Rhinolophus ferrumequinum*, *Myotis myotis*, *M. capaccinii* and *Miniopterus schreibersi* in the Grotta degli Ausi, Colle Fornaro, Prossedi (Latina); 2) Colony of *Miniopterus schreibersi* in the Cisterne delle Terme di Nettuno, Ostia Antica, Roma.

*iv.* Sicily

1) Mixed colony of *Rhinolophus ferrumequinum*, *Myotis myotis*, *M. capaccinii* and *Miniopterus schreibersi* in the Grotta dei Puntali, Carini (Palermo); 2) Colony of *Tadarida teniotis* in a building of Palermo.

The sample collecting was made under sterile conditions, in order to avoid the contamination with environmental bacterial flora. The single bat individuals, after the capture, were placed for a short period inside sterile plastic containers and later released. Their faeces were removed with sterile buffers and placed in Amies-Stuart medium with particles of charcoal for transportation. Subsequently, in the laboratory, the buffers were sown using the methods already described by Piraino *et al.* (1996). In the same time a 3% Blood-Agar, for each sample, was incubated under anaerobiosis conditions, using a special container inside which the air was replaced by a mixture composed of N<sub>2</sub> (90,5%), CO<sub>2</sub> (5%) and H<sub>2</sub> (4,5%). For the identification of the isolated strains, we have used the systematic keys proposed by Krieg and Holt (1984) and Holt *et al.* (1994).

## 3. Results and discussion

From the 89 samples examined, we have isolated 26 bacterial species. In the faeces of *Miniopterus schreibersi* we found: *Hafnia alvei*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia blattae*,

*Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Kluyvera ascorbata*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas putida*, *Streptococcus faecalis* and *Citrobacter freundii*. In *Myotis daubentoni* we recorded the presence of *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *E. agglomerans*, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus faecalis*. From faeces of *Myotis capaccinii* we isolated the following species: *Hafnia alvei*, *Pseudomonas putida*, *P. cepacia*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *E. adecarboxylata*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae*, *E. sakazakii*, *E. agglomerans*, *E. aerogenes*, *E. intermedium*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii* and *Streptococcus faecalis*. In the faeces of *Myotis myotis* we have recorded the presence of *Citrobacter freundii*, *Enterobacter agglomerans*, *E. cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Kluyvera cryocrescens*, *Proteus vulgaris* and *Streptococcus faecalis*. In *Pipistrellus kuhli* we detected the presence of the following species: *Escherichia adecarboxylata*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter agglomerans*, *E. aerogenes*, *E. gergoviae*, *Proteus vulgaris* and *Streptococcus faecalis*.

Lastly, in the faeces of *Tadarida teniotis* we found: *Alcaligenes faecalis*, *A. denitrificans*, *Escherichia adecarboxylata*, *E. coli*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter agglomerans*, *E. cloacae*, *E. sakazakii*, *E. taylorae*, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Yersinia frederiksenii*, *Streptococcus faecalis* and *S. faecium*.

In the grounds incubated under anaerobiosis we did not observe any growth. No one of the isolated strains showed any metabolic peculiarity. The main part of the isolated species belongs to the family Enterobacteriaceae; one species alone belongs to Pseudomonaceae, while another one to the Enterococci group D. These species dwell normally in the intestinal tract of many mammals and they have been already found in the faeces of some European bat taxa (Pinus & Muller, 1980; Piraino et al., 1996; Di Bella et al., 1997b). Among the Enterobacteriaceae, besides the species more commonly found, we have isolated 3 less frequent ones: *Kluyvera ascorbata*, *K. criocrescens* and *Escherichia blattae*. The presence of *Kluyvera* (*Kluyvera* sp.) was previously observed only in a Malagasy molossid *Chaerephon pumila* (= *Tadarida pumila*) (Cassel Beraud & Richard, 1988). The presence of *E. blattae*, on the other hand, is an unprecedented occurrence in the limited available literature.

No one of the isolated species belongs to the

category of obliged pathogens, though *C. freundii* and *P. mirabilis* can be considered as primary agents of infection respectively to the cattle udder and to the urinary and gastroenteric apparatus of many mammalian species; a similar consideration applies to *E. coli*, which could nevertheless be included among the obliged pathogens due to its serotype as regards the other bacterial species which have been isolated, as *K. oxytoca*, *P. putida*, *S. faecalis*, and the same *C. freundii*, an opportunistic pathogenic type has been demonstrated.

The results of our investigations so far conducted in Italy do not show the diffusion of bacterial agents responsible for zoonosis through the faecal contamination by chiroptera. Therefore bats do not seem to constitute a danger to human health (Di Bella et al., 1997b, 1997c).

However, it is certainly useful to improve the knowledge on the enteric microflora of bats, in order to acquire further information on the digestive physiology and metabolism of chiroptera, as well as to monitor their possible role in the spreading of germs causing zoonosis.

#### 4. Acknowledgements

We are particularly grateful to Stefania Biscardi (Roma), Luciano Bani, Elisabetta de Carli, Felice Farina, Elena Gori (Milano) and Vincenza Lo Verde (Palermo) for their precious collaboration.

#### References

- ARATA A.A., VAUGHN J. B., NEWELL K. W., BARTH R. A. J. & GRACIAN M. (1968) - *Salmonella* and *Shigella* infections in bats in selected areas of Columbia. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 17: 92-95.
- BRYGOO R., SIMOND J. P., MAYOUX A. M. (1971) - Les Entérobactéries pathogènes chez *Pteropus rufus* (Mégachiroptère) à Madagascar. *Société de biologie de Madagascar. Bactériologie*, pp. 1793-1795.
- CASSEL-BERAUD A. M., RICHARD C. (1988) - The aerobic intestinal flora of the microchiropteran bat *Chaerephon pumila* in Madagascar. *Bull. Soc. Pathol. Exot. Filiales*, 81, (5): 806-810.
- DI BELLA C., PIRAINO C., FORNASARI L., GORI E., VIOLANI C., ZAVA B. (1997a) - Note sulla microflora enterica aerobia di tre specie di Vespertilionidi antropofili (Chiroptera, Vespertilionidae). *I Convegno Nazionale sulla Fauna Urbana, Roma*.
- DI BELLA C., PIRAINO C., MILAZZO C., RUSSO G., ZAVA B., CARACAPPA S. (1997b) - Screening sierologico, batteriologico, virologico e micologico sulle principali specie di micromammiferi selvatici presenti in Sicilia e Calabria nei confronti di eventuali zoonosi. *II Convegno sulle Ricerche Finalizzate e Correnti degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali Italiani. Roma*, 25-26 Giugno.

- DI BELLA C., LO VERDE V., BISCARDI S., ZAVA B. (1997c) - Note sulla microflora enterica di alcune specie di chiroterri troglotrofici (Chiroptera, Vespertilionidae). *Atti del 1° Incontro di Studi "Il Carsismo nell'area mediterranea, geologia, paleogeografia, biologia"*. Castro Marina, Lecce.
- HOLT J. G., KRIEG N. R., SNEATH P. H. A., STALEY J. T., WILLIAMS S. T. (1994) - *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore, U. S. A.
- KLITE P. D. (1965a) - Intestinal bacterial flora and transit time of three neotropical bat species. *J. Bacteriol.*, 90: 375-379.
- KLITE P. D. (1965b) - Isolation of *Salmonella* from a neotropical bat. *J. Bacteriol.*, 90: 831.
- KRIEG N. R., HOLT J. C. (Eds) (1984) - *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore, U.S.A.
- MAYOUX A. M., COULANGES P., BRYGOO E. (1970) - Un nouveau réservoir de virus des entérobactéries pathogènes pour l'homme: le Mégachiroptère *Pteropus rufus* Geoffroy, à Madagascar. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 270, 17: 2137- 2138.
- PINUS M., MULLER H. E. (1980) - Enterobakterien bei Fledertieren (Chiroptera). *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A* 247: 315-322.
- PIRAINO C., DI BELLA C., VIOLANI C., ZAVA B. (1996) - Notes on the aerobic enteric microflora of *Tadarida teniotis* (Rafinesque, 1814) (Chiroptera, Molossidae). *Myotis*, 34: 105-112.

# INDAGINE SIEROLOGICA SU UNA POPOLAZIONE DI CINGHIALI NELLE ALPI OCCIDENTALI

Ferroglio E.\*, Acutis P.L.\*, Masoero L.°, Gennero S.°, Rossi L.\*

\* Dipartimento di Produzioni Animali, Epidemiologia ed Ecologia, Via L. Da Vinci, 44 10095 Grugliasco (TO)

° Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Via Bologna 148 - 10054 Torino

**Riassunto** - Durante le annate venatorie 1996/97 e 1997/98 sono stati raccolti ed analizzati i sieri di 291 cinghiali abbattuti in Alta Val di Susa (Torino). Di questi, 288 campioni sono stati analizzati per la ricerca di anticorpi anti-Influenza suina e 279 per la presenza di anticorpi anti-Malattia Vescicolare del suino: per entrambe le malattie non è stata rilevata alcuna positività sierologica. Su 289 campioni, 15 sono risultati positivi per la presenza di anticorpi anti-Pestivirus, ma nessuno di essi ha presentato positività per Peste Suina Classica. In 29 campioni, su 290 analizzati, è stata riscontrata positività per la Malattia di Aujeszky, mentre 84 sieri, su 282 testati, sono risultati positivi per Parvovirus suina. Per tutte le indagini sierologiche relative alle malattie virali è stata utilizzata la metodica ELISA. Per la ricerca di anticorpi anti-*Brucella abortus* sono stati saggiati, con la metodiche di sieroaagglutinazione rapida e di fissazione del complemento, 178 campioni: di questi 9 sono risultati positivi. L'analisi dei dati mostra come la prevalenza nei confronti della Parvovirus e della Malattia di Aujeszky aumenti con l'aumentare dell'età dei cinghiali esaminati.

**Abstract - Serologic investigation on a wildboar population in the western Alps.** Sera from 201 wild boars were collected in the High Susa Valley (Turin) during two consecutive hunting seasons (1996/97 and 1997/98). Fast seroagglutination (RBT) and the complement fixation test (CFT) were used to detect antibodies against *Brucella abortus* (178 samples). ELISA tests were carried out to detect antibodies against the following infections: Swine Influenza (288 sera), Vesicular Swine Disease (279), Pestivirus (289), Classical Swine Fever (15), Swine Parvovirus (282) and Aujeszky's Disease-PRV (290). Eight sera tested positive at the RBT and 3 at the CFT for brucellosis, but low titers and absence of isolation were probably suggestive of aspecific reactions. No seropositivity was found for Swine Influenza and Vesicular Swine Disease. 15 samples, out of 289, were positive for antibodies against Pestivirus, but none of them resulted positive for Classical Swine Fever. Seropositivity for Aujeszky's Disease was found in 29 samples, and 84 sera were positive for Swine Parvovirus. An age-related increase of seroprevalence for Swine Parvovirus and PRV was observed.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 225 - 228

## 1. Introduzione

Le ricerche sull'ecopatologia del Cinghiale (*Sus scrofa*) in Europa hanno raramente interessato popolazioni dell'arco alpino. Abbiamo quindi ritenuto interessante condurre un'indagine sierologica su cinghiali oggetto di prelievo venatorio in un settore delle Alpi Occidentali (Alta Val Susa). Nell'area di studio questa specie, scomparsa in epoca napoleonica, è ritornata a seguito di migrazioni avvenute dalla Francia all'inizio di questo secolo (De Beaux & Festa, 1927).

## 2. Materiali e metodi

Durante le stagioni venatorie 1996/97 e 1997/98, sono stati raccolti 291 campioni di sangue da cinghiali abbattuti in Alta Val di Susa (Torino). Il sangue è stato prelevato al momento dell'abbattimento dalla ferita e raccolto in provetta con gel separatore (Venoject VT109). Ogni campione è stato centrifugato in giornata ed il siero ottenuto è stato conservato

a - 20°C fino al momento dell'analisi.

Degli animali si sono registrati il sesso e l'età, valutata secondo Wagenknecht (1984).

I sieri sono stati analizzati con test specifici per la ricerca di anticorpi nei confronti dei patogeni sotto elencati:

- *Brucella abortus*: test del Rosa Bengala (RBT) e fissazione del complemento (FDC);
- Virus della Malattia Vescicolare del suino (MVS), virus della Malattia di Aujeszky (PRV) e Pestivirus: ELISA di competizione (Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia);
- Virus della Peste suina classica (PSC): i sieri positivi per Pestivirus sono stati analizzati utilizzando il kit "Ceditest ELISA for CSFV-Ab" (Institute of Animal Science and Health di Lelystad -Olanda);
- Virus dell'Influenza suina: ELISA indiretto (Melotest Swine Influenza Melotec);
- Parvovirus suino: ELISA indiretto (Ingezim Parvo Porcino Agrolabo).

Il test  $\chi^2$  è stato usato per valutare le differenze in sieroprevalenza tra i sessi e tra le seguenti classi di età: soggetti sotto i 12 mesi, tra 1 e 2 anni, sopra i 2 anni. Il livello di significatività è stato stabilito a  $P \leq 0,05$ .

### 3. Risultati

I risultati dei test sono riportati in tab. 1 e 2. Nessuna positività è stata riscontrata tra i 288 campioni testati per Influenza suina e i 279 analizzati per MVS. Sono risultati positivi per infezioni da Pestivirus 15 sieri su 132 (5,2%), ma nessuna di queste positività è stata confermata al test per la PSC. Per quanto riguarda la brucellosi si sono rivelati positivi 9 campioni su 291 analizzati (3,1%). Di questi 8 campioni sono risultati positivi al solo RBT e 3, di cui 2 già positivi all'RBT, sono risultati positivi in FDC, al titolo soglia (1:20 UI). Una più alta prevalenza è risultata nei confronti della Malattia di Aujeszky, con 28 sieri positivi su 283 (9,9%), e della Parvovirosi, con 82 positivi su 272 (30,1%). Relativamente a queste due ultime infezioni, la sieroprevalenza non differisce significativamente tra maschi e femmine, mentre vi è un significativo aumento delle positività con l'aumentare dell'età degli animali all'interno delle tre classi considerate (Malattia di Aujeszky:  $P < 0,005$   $\chi^2$  linear trend= 8.1 OD= 1.00, 3.93, 7.00; Parvovirosi:  $P = 0,0001$   $\chi^2$  linear trend= 14.725 OD= 1.00, 3.51, 4.30).

### 4. Discussione

Positività per *Brucella* sono state riscontrate solo nella stagione 1996/97. I bassi titoli rilevati e l'assenza di isolamenti, di cui a un'indagine parallela (Ferroglia, 1998), possono far pensare a reazioni aspecifiche dovute ad altre infezioni (*Yersinia enterocolitica*) o ad occasionale contatto dei cinghiali con brucelle presenti nell'ambiente (Ahmad *et al.*, 1996). Nell'area di studio infatti permangono alcuni focolai di brucellosi nei ruminanti domestici (AAVV, 1996) e sono segnalati casi anche nel camoscio (Ferroglia *et*

*al.*, 2003). Sebbene *B. abortus* sia in grado di infettare i suini, in questa specie l'infezione si rivela poco patogena e con tendenza all'auto-sterilizzazione (Washko *et al.*, 1951) confermando la specie-specificità del genere *Brucella* (Meyer, 1964). Appare quindi improbabile che il cinghiale possa agire da reservoir per specie diverse da *B. suis*.

Per quanto riguarda l'influenza suina, l'assenza di sieropositività è in accordo con quanto rilevato da altri autori in Italia (Cordioli *et al.*, 1993; Gennero *S. pers. comm.*) e conforta ulteriormente l'ipotesi che quest'infezione, segnalata invece in Germania (Teuffert *et al.*, 1991; Dedek *et al.*, 1989), sia assente nelle popolazioni di cinghiali presenti sul territorio italiano.

Per quanto riguarda le infezioni da Pestivirus, è da notare come le 15 positività riscontrate per questo gruppo non siano state confermate con il test specifico per PSC. Questo risultato concorda con l'assenza di infezione nei suini domestici della regione Piemonte (AAVV, 1996) e con la situazione epidemiologica nei cinghiali dell'arco alpino occidentale. Queste positività paiono quindi imputabili a cross-reazioni con antigeni comuni ai virus della Diarrea Virale Bovina (BVD), della Border Disease (BD) o ad altri eventuali Pestivirus di origine silvestre. Considerando la alte prevalenze per BVD riscontrate nei bovini presenti nell'area di studio (Gennero *S. pers. comm.*), la recettività dei suidi all'infezione spontanea (Terpstra & Wenswoort, 1997) e i dati riportati da Dahle *et al.* (1993), appare probabile che le positività riscontrate per Pestivirus siano imputabili ad infezioni da BVD.

Nel caso della Parvovirosi, la percentuale di positività, seppur rilevante, è inferiore a quella segnalata da altri autori in Italia e Germania (Oggiano *et al.*, 1991; Cordioli *et al.*, 1993; Lutz & Wurn, 1996), ma comparabile con quella rilevata da New *et al.* (1994) negli USA. Considerando che recenti studi (Hahn *et al.*, 1997) hanno mostrato una minore sensibilità

**Tab. 1** - Risultati (positivi/totale e %) dell'indagine sierologica condotta su sieri di cinghiale prelevati in Alta Val di Susa nelle stagioni venatorie 1996/97 e 1997/98. Tra parentesi sono riportati i valori dei titoli soglia.

Parvovirus suino (+/-)	Malattia di Aujeszky (1:4)	Pestivirus (1:4)	PSC (+/-)	Brucella abortus RTB (+/-) FDC (>20 UI)	Influenza suina (+/-)	MVS (1:7.5)
82/272 (30.1 %)	28/283	15/289 (9.9%)	0/15 (5.2 %)	9/291	0/288 (3.1 %)	0/279

dei test diagnostici, standardizzati per i suini domestici, nei confronti delle infezioni da ceppi di parvovirus derivanti dal cinghiale, le prevalenze da noi riscontrate potrebbero comunque risultare sottostimate rispetto alla situazione reale.

La prevalenza di quest'infezione aumenta nelle tre classi di età individuate, con un trend significativo. Questo dato concorda con quanto rilevato dagli altri autori e può essere riconducibile al comportamento sociale della specie unitamente alle modalità di trasmissione del Parvovirus. I cinghiali, infatti, vivono all'interno del gruppo materno fino ad un anno di età, dopodichè si ha una fase di dispersione che porta ad un aumento dei contatti con altri conspecifici e all'utilizzo di nuove porzioni di territorio (Briederman, 1986). A questa dispersione dei soggetti sul territorio potrebbe corrispondere un maggiore rischio di contrarre l'infezione, sia per via diretta tramite contatto con soggetti infetti, sia per via indiretta vista la notevole resistenza del Parvovirus nell'ambiente, Per quanto riguarda l'infezione da PRV, merita segnalare come le prevalenze riscontrate nei due anni studio non differiscano in modo significativo. Considerando che la popolazione in esame non ha contatti con suini domestici, i risultati ottenuti paiono confermare, similmente a quanto già rilevato da Pirtle *et al.* (1989), come il cinghiale possa costituire un serbatoio per questo virus. In accordo con le esperienze finora riportate (Van der Leek *et al.*, 1993; Pirtle *et al.*, 1989), si registra un significativo aumento della sieropositività col crescere dell'età. La bassa prevalenza riscontrata in soggetti di età compresa tra 4 e 12 mesi potrebbe essere imputabile ad un decorso infausto dell'infezione in neonati e lattanti. Questo, tuttavia, sembra contrastare con precedenti esperienze che individuano una minore patogenicità dei ceppi selvatici di PRV (Hahn *et al.*, 1997). Appare dunque plausibile che le basse prevalenze riscontrate in questa classe di età siano dovute ad una caduta dell'immunità passiva in un

momento in cui, a causa degli scarsi contatti con soggetti estranei al gruppo sociale e potenzialmente infetti, non si è ancora sviluppata un'immunità attiva post-infezione. Ne deriva che, qualora si intenda verificare la presenza di sieropositività per PRV in una popolazione di cinghiali, l'indagine debba interessare soprattutto soggetti sub-adulti o adulti.

## 5. Ringraziamenti

Questa ricerca è stata parzialmente eseguita con fondi Interreg II. Gli autori desiderano ringraziare i cacciatori del CATO2, gli agenti ed il Brig. Aldo Tolosano, del Servizio Tutela della Flora e della Fauna della Provincia di Torino, per il supporto nella raccolta dei campioni.

## Bibliografia

- AAVV (1996) - *Relazione di Attività 1995*. Regione Piemonte, Assessorato all'Assistenza Sanitaria - Settore Assistenza Veterinaria. 150pp.
- AHMAD R. & MUNIR M.A. (1996) - Seoprevalence of brucellosis in wild animals and birds. *Pakistan Veterinary Journal*, 16: 152-153.
- BRIEDERMANN L. (1986) - *Schwarzwild*. Neumann & Neudamn Verlag Berlin, pp. 529.
- CORDIOLI P., CALLEGARI S., BERLINZANI A., FONI E., CANDOTTI P. & BARIGAZZI G. (1993) - Indagine sierologica su cinghiali selvatici dell'Appennino parmense. *Atti S.I.S.VET.*, XLVII: 1159-1167.
- DAHLE J., PATZELT TH., SCHAGEMAN G. & LIESS B. (1993) - Antibody prevalence af hog cholera, bovine viral diarrhoea and Aujeszky's disease virus in wild boars in Northern Germany. *Deutsche-Tierarztliche-Wochenschrift*, 100(8):330-333.
- DE BEAUX O. & FESTA E. (1927) - La ricomparsa del cinghiale nell'Italia settentrionale-occidentale. *Memorie Società Naturale di Scienze Naturali e del Museo Civico di Storia Naturale di Milano*, IX:266-269.
- DEDEK J., LANGE E., POHLE V., KOKLES R., LOEPELMANN H. & KLAHN J (1990) - Zun Vorkommen von Antikörpern gegen Influenza A viren beim Schwarzwild. *Monatshefte fur Veterinarmedizin*, 201-203.
- FERROGLIO E., GENNERO S., ROSSI L. & TOLARI F. (2003) - Monitoraggio di un focolaio di brucellosi nel camoscio alpino. *J. Mt. Ecol.* 7:229-232.

**Tab. 2** - Distribuzione delle positività per Parvovirus e PRV nelle diverse classi di età (pos/tot e %).

	Età <12 mesi	Età 12 - 24 mesi	Età >24 mesi
Parvovirus	10/76 (13.1%)*	42/121 (34.7%)	30/76 (39.5%)
PRV	2/72 (2.8%)*	12/119 (10.0%)	14/84 (16.7%)

\* = p<0.05

- FERROGLIO E. (1998) - *Epidemiologia della Tuberculosis e della Brucellosi in ambiente silvestre*. Tesi di dottorato. Università di Bologna, pp.108.
- HAHN E.C., PAGE G.R., HAHN P.S., GILLIS K.D., ROMERO C., ANNELLI J.A. & GIBBS E.P.J. (1997) - Mechanisms of transmission of Aujeszky's disease virus originating from feral swine in the USA. *Veterinary Microbiology*, 55: 123-130.
- LUTZ W. & WURM R. (1996) - Serological investigations to demonstrate the presence of antibodies to the viruses causing porcine reproductive and respiratory syndrome, Aujeszky's disease, hog cholera and porcine parvovirus among wild boar in Northrhine Westfalia. *Zeitschrift für Jagdwissenschaft*, 42(2):123-133.
- MEYER M.E. (1964) - The epizootiology of brucellosis and its relationship to the identification of Brucella organism. *American Journal of Veterinary Research*, 25: 320-323.
- NEW J.C., DELORIER K., BARTON C.E., MORRIS P.J. & POTGIETER L.N.D. (1994) - A serologic survey of selected viral and bacterial diseases of European wild hogs, Great Smoky Mountains National Park, USA. *Journal of Wildlife Disease*, 30: 103-106.
- OGGIANO A., PATTA C., LADDOMADA A. & CACCIA A. (1991) - Indagine sieroepidemiologica sulla diffusione della Malattia di Aujeszky nei cinghiali della Sardegna. *Atti S.I.S.VET.*, XLV: 1157-1161.
- PIRTLE E.C., SACKS J.M., NETTLES V.F. & ROLLOR E.A. (1989) - Prevalence and transmission of Pseudorabies virus in an isolated population of feral swine. *Journal of Wildlife Diseases*, 25(4): 605-607.
- TERPSTRA C. & WENSVOORT G. (1997) - A congenital persistent infection of bovine viral diarrhoea virus in pigs: clinical, virological and immunological observations. *Veterinary Quarterly*, 19(3):97-101.
- TEUFFERT J., SINNECKER R. & KARGE E. (1991) - Serological survey of HI antibodies against porcine and human type A influenza viruses among domestic and wild pigs in East Germany. *Monatshefte für Veterinärmedizin*, 46(5):171-174.
- VAN DER LEEK M.L., BECKER H.N., PIRTLE E.C., HUMPHREY P., ADAMS C.L., ALL B.P., ERICKSON G.A., BELDEN R.C., FRANKENBERGER W.B. & GIBBS E.P.J. (1993) - Prevalence of Pseudorabies (Aujeszky's disease) virus antibodies in feral swine in Florida. *Journal of Wildlife Diseases*, 29(3): 403-409.
- WAGENKNECHT E. (1984) - *Altersbestimmung des erlegten wildes*. Neumann & Neudamm Verlag Berlin, pp.148.
- WASHKO F.V., BAY W.W., DONHAM C.R. & HUTCHINGS L.M. (1951) - Studies on the pathogenicity of B. abortus for swine. *American Journal of Veterinary Research*, 12: 320-323.

# MONITORAGGIO DI UN FOCOLAIO DI BRUCELLOSI NEL CAMOSCIO ALPINO

Ferroglio E.\*, Gennero S.\*\*\*, Rossi L.\*, Tolari F.\*\*\*

\*Dipartimento di Produzioni Animali, Epidemiologia ed Ecologia, Via L. Da Vinci, 44 10095 Grugliasco (TO);

\*\*Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte Liguria e Valle d'Aosta, Via Bologna 242 - 10100 Torino;

\*\*\*Dipartimento di Patologia Animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti, Viale delle Piagge 2 - 56124 Pisa

**Riassunto** - Questo è un rapporto preliminare sul primo focolaio di brucellosi in camosci (*Rupicapra rupicapra*) del versante alpino italiano. A seguito dell'isolamento di *Brucella abortus* biovar 1 da un camoscio rinvenuto in Val di Susa (Torino) nel Dicembre 1994, e' stato intensificato il monitoraggio sugli ungulati selvatici dell'area. Ad oggi, sono state eseguite 282 autopsie di ruminanti selvatici e si sono ispezionate le carcasse di 2249 ungulati abbattuti in caccia. Inoltre, si sono eseguite analisi per *Brucella* su 1204 campioni di siero. Sono stati individuati altri 9 camosci infetti (5 nel 1995 e 4 nel 1996), tutti provenienti da un settore limitato di 3.000 ha circa. In questo settore, la prevalenza dell'infezione nel camoscio e' passata dal 10.7% nel 1995 all' 8% nel 1996. Nel 1997 non e' stata riscontrata alcuna positività, ma stante l'entità del campione, non si può escludere una prevalenza inferiore all'8%. Casi di brucellosi non sono stati segnalati, sinora, in mandrie e greggi indenni alpeggiate nel settore di provenienza dei camosci infetti o contigue ad esso. L'indagine anamnestica ha evidenziato che, nell'estate 1994, una mandria positiva per brucellosi aveva monticato illegalmente in detto settore. E' quindi verosimile che il focolaio abbia avuto un'origine domestica. Il monitoraggio verrà proseguito in modo da verificare se *B. abortus* possa trasmettersi efficacemente fra ruminanti selvatici, indipendentemente da nuovi apporti ad opera di bestiame infetto.

**Abstract - Monitoring of a brucellosis outbreak in Alpine chamois.** This is a preliminary report of the first outbreak of brucellosis in chamois (*Rupicapra rupicapra*) in Italy. Following isolation of *Brucella abortus* biovar 1 in a chamois buck from Susa Valley (Turin) in December 1994, wild ungulates from this area have been the object of improved monitoring. To date, necropsy of 282 wild ruminants found dead and inspection of 2249 culled ungulates were carried out. In addition, 1204 sera were tested for anti-*Brucella* antibodies. Nine more infected chamois (4 in 1995 and 5 in 1996) were found, all of them collected in a limited zone of 3.000 ha. In this zone, the prevalence of infection was 10.7% in 1995 and 8% in 1996. No infected chamois was found in 1997 but, considering the herd and sample size, a hypothetical maximum prevalence of 8.1% cannot be excluded. No reinfection was observed in sanitized domestic herds and flocks ranging in or close to the area where infected chamois came from. The outbreak is likely of domestic origin, since infected cattle illegally grazed this zone during summer 1994. Monitoring will be pursued to verify if efficient transmission of *B. abortus* may occur among wild ruminants without new supplies from infected livestock.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 229 - 232

## 1. Introduzione

Presente nei ruminanti selvatici africani (Waghela & Karstad, 1986; Greth *et al.*, 1992) e nordamericani (McCorquodale & Di Giacomo, 1985; Tessaro & Forbes 1986), la brucellosi è solo sporadicamente segnalata nei ruminanti selvatici dell'arco alpino (Bouvier *et al.*, 1958; Garin-Bastuji *et al.*, 1990; Ferroglio *et al.*, 1998). I risultati di indagini sierologiche, pur a carattere estemporaneo, confermano l'assenza/ sporadicità dell'infezione brucellare nei popolamenti studiati (Corti *et al.*, 1984; Tolari *et al.*, 1987; Gauthier *et al.*, 1991; Simon & Sarrazin, 1992; Gennero *et al.*, 1993; Giacometti *et al.*, 1995; DeMatteis *et al.*, 1995) e autorizzano a ritenere i pochi casi di malattia sin qui segnalati un epifenomeno della situazione sanitaria nel patrimonio zootecnico. Peraltro, il rischio di cross-trasmissione dell'in-

fezione brucellare è reale e d'attualità, almeno sulle Alpi Occidentali, per le frequenti occasioni di contatto tra ruminanti domestici non ancora indenni e ruminanti selvatici in espansione numerica e territoriale. Ne è testimonianza un focolaio da noi seguito a partire dal Dicembre 1994, dopo il ritrovamento di un primo camoscio (*Rupicapra rupicapra*) infetto da *Brucella abortus* biovar 1 (Rossi *et al.*, 1995).

## 2. Materiali e metodi

Lo studio è stato condotto in Alta Val di Susa, in provincia di Torino. L'area monitorata appartiene alle Alpi Cozie e si estende su 64.000 ha, con altitudini che variano da poco più di 600 a 3505m s.l.m. Il clima è xerico intra-alpino, con precipitazioni medie di 724 mm/anno. Durante l'estate alpeggiano in Alta Val di Susa 4000 bovini e oltre 5000 ovi-capri-

ni, provenienti sia da allevamenti locali sia dalla pianura. Quanto ai ruminanti selvatici, sono presenti più di 2000 camosci, circa 1000 cervi (*Cervus elaphus*), oltre 2500 caprioli (*Capreolus capreolus*) e un centinaio di stambecchi (*Capra ibex*).

A seguito del primo caso di brucellosi in un camoscio, è stato intensificato il monitoraggio sanitario sugli ungulati selvatici presenti nell'area. Questo ha portato, fra Dicembre 1994 ed Agosto 1998: a) al recupero di 282 carcasse (221 caprioli, 48 camosci e 13 cervi), successivamente sottoposte a necropsopia; b) all'ispezione, presso un centro di raccolta, di 2249 carcasse di ungulati abbattuti durante l'esercizio venatorio nel 1995, 1996 e 1997; c) alla raccolta di un campione di siero da 1204 di questi ungulati (486 cervi, 239 caprioli, 479 camosci) (Tab.1). Il sangue, prelevato dalla giugulare o raccolto dalla ferita, veniva riposto in una provetta del tipo gel-barrier (Venogel VT) e centrifugato in giornata. I sieri erano prontamente stoccati a -20°C.

Sul siero sono state eseguite la Fissazione del Complemento (FDC) ed il Test al Rosa Bengala (RBT). Sono stati considerati positivi titoli FDC >20 UI/ml. Nei casi in cui il siero di sangue non era disponibile sono stati analizzati gli estratti polmonari ottenuti secondo la procedura descritta da Ferroglia *et al.*, (2000). In caso di quadro patologico sospetto o di positività sierologica è stata tentata la coltura seguendo le procedure descritte in Tolari e Farina (1988). Infine, si è verificata la situazione sanitaria delle greggi e delle mandrie che monticavano nell'area colpita (dati dell'Osservatorio Epidemiologico Regionale).

### 3. Risultati

*Brucella abortus* biovar 1 è stata isolata in 6 camosci maschi di cui 3 rinvenuti morti (1 per anno dal 1994 al 1996), 2 abbattuti durante l'attività venatoria (1 nel 1995 ed uno nel 1996) ed 1 prelevato durante un intervento

straordinario di monitoraggio (1996). Positività sierologiche superiori a 80 UI/ml, non seguite da isolamento, sono state rilevate in altre 2 femmine di camoscio abbattute nel 1995 e nell'estratto polmonare di un maschio ed una femmina di camoscio abbattuti nel 1996. Tutti i soggetti positivi erano adulti (età fra 4 e 13 anni) e provenivano da un settore di 3000 ha circa, in sinistra orografica della valle principale. Nessun isolamento di Brucelle o riscontro di siero-positività è avvenuto dopo Dicembre 1996. Nessuna siero-positività o lesione sospetta è stata individuata in cervi e caprioli.

Nel settore interessato dalla presenza di camosci infetti, la siero-prevalenza per brucellosi è passata dal 10.7% nel 1995 (95% IC=2.3<P<28.2%) al 7.7% (95% IC=2.1<P<18.4%) nel 1996, mentre nell'intera area di studio i valori sono stati rispettivamente del 2.3% (95% IC=0.5<P<6.4%) e del 1.4% (95% IC=0.3<P<4.1%). Nessuna positività è stata riscontrata nel 1997 (N= 136). Tuttavia, applicando la formula di cui in Martin *et al.* (1987) e considerando per il settore colpito una popolazione di circa 500 camosci, non si può escludere che la siero-prevalenza potesse ancora raggiungere l'8.1%.

Il quadro patologico osservato nei 3 soggetti rinvenuti morti comprendeva stato cachettico, orchite bilaterale caseo-calcifica, artrite del carpo e del ginocchio, bursite carpica. In uno di questi soggetti è anche stata riscontrata un'uveite. Ad esclusione di un caso in cui erano presenti dimagrimento e lesioni articolari (carpo e ginocchio), i soggetti abbattuti durante l'attività venatoria non presentavano scadimento delle condizioni fisiche generali. L'unica lesione era data, nei 3 maschi esaminati, da un'orchite calcifica.

All'interno dell'area da cui provenivano i camosci infetti hanno monticato, nel 1995 e nel 1996, 170 bovini e 2361 ovi-caprini su un totale di 5 alpeggi. Ad esclusione di un alpeggio dove nel 1995 sono risultati positivi alcuni

**Tab. 1** - Capi abbattuti, sieri raccolti (n° e % sui capi abbattuti) e sieri analizzati durante le annate venatorie 1995-1996-1997.

	Camoscio			Cervo			Capriolo		
	Capi	Sieri	Sieri	Capi	Sieri	Sieri	Capi	Sieri	Sieri
	abb.	rac.%	utili	abb.	rac.%	utili	abb.	rac.%	utili
1995	186	160 86	133	167	146 87	129	159	137 86	100
1996	250	216 87	210	313	272 87	187	133	111 83	72
1997	254	170 67	136	231	192 79	170	123	80 65	67
TOTALE	690	546 79	479*	711	610 86	486	415	328 79	239

ovini (Grange della Valle), presso nessuna mandria o gregge indenni da brucellosi si sono registrati casi di reinfezione al controllo sierologico post-demonticazione. Per quanto riguarda l'alpeggio prima citato, bovini ed ovini qui monticati hanno sempre presentato, all'anamnesi "di stalla", siero-positività per brucellosi legate al persistere di usi ed abitudini che contrastano con le norme di sanità pubblica. Risulta, in particolare, che nel 1994 la mandria di bovini di Grange della Valle ha alpeggiato clandestinamente, non avendo ottenuto l'autorizzazione alla monticazione per la presenza di capi con infezione brucellare. Sempre dall'anamnesi "di stalla" risulta che, nel 1994, l'1.1% delle mandrie bovine (N= 483) e il 2.8% delle greggi ovi-caprine (N= 325) allevate in Val di Susa presentavano siero-positività ricorrenti per brucellosi.

#### 4. Discussione

L'aggregazione spaziale dei camosci infetti e l'anamnesi relativa alla mandria bovina che da anni alpeggia a Grange della Valle depongono, chiaramente, per un'origine domestica di questo focolaio di brucellosi. Il sospetto è rinforzato dalla siero-negatività (in FDC ed RBT) di 13 camosci catturati nel 1993 presso l'alpeggio Clot Brun, all'interno del settore attualmente infetto (Rossi, dati non publ.). L'origine domestica è stata ipotizzata per tutti i focolai di brucellosi (da *B. abortus* o *B. melitensis*) segnalati in ruminanti selvatici in Europa (Bouvier et al., 1958; Rementzova, 1964; Leon-Vizcaino et al., 1985; Garin-Bastuji et al., 1990; Durand, 1994; Simon & Sarrazin, 1992).

I dati confermano che il camoscio è specie sensibile all'infezione da *B. abortus*, che può decorere con quadro patologico grave caratterizzato, come già in Bouvier et al. (1958), da risentimento articolare e calcificazione delle lesioni. Tuttavia, ben 6 camosci da noi esaminati si presentavano in buone condizioni fisiche, senza lesioni apprezzabili o con lesioni limitate ai genitali maschili; è dunque lecito domandarsi se questi soggetti avrebbero potuto infettarne altri e, in ultima analisi, se esista la possibilità di una brucellosi "di ritorno" su mandrie bovine indenni, in coabitazione stagionale coi camosci. Risposte definitive non si possono dare, al momento, considerati l'arco di tempo coperto dallo studio e la forza relativamente modesta del campionamento, peraltro intrinseca a indagini epidemiologiche sulla fauna selvatica. In linea provvisoria, il trend al ribasso delle siero-prevalenze ci induce a ritenere che, se anche

esiste trasmissione intra-specifica nel camoscio, questa non è particolarmente efficiente; nel caso specifico, il fatto che tutti i camosci infetti siano sessualmente maturi potrebbe rimandare ad una trasmissione per via coitale. Ci si può poi attendere che un focolaio "silvestre" di brucellosi si estenda secondo le modalità d'uso dello spazio proprie dei reservoirs. Questo avrebbe dovuto comportare la comparsa di casi anche a diversi km di distanza dalla località di contagio (Hamr, 1984; Jullien et al., 1997); ciò che fino al momento attuale non si è verificato. Quanto al rischio di una brucellosi "di ritorno", è per ora confortante l'assenza di reinfezioni nelle mandrie e nei greggi indenni monticanti nell'area di rinvenimento dei camosci infetti. Altrove, in Europa, è stato osservato che la brucellosi, una volta eliminata dal patrimonio zootecnico, scompare anche dalle popolazioni di ruminanti selvatici eventualmente infettatesi (Rementzova, 1964; Leon-Vizcaino, 1991; Simon & Sarrazin, 1992). I presupposti per inquadrare correttamente l'evolvere del focolaio oggetto di questa indagine sono stati finalmente creati, nell'inverno 1996/97, con il risanamento della mandria di Grange della Valle, a seguito di stamping out dell'intero effettivo e sua successiva ricostituzione a partire da soggetti indenni.

#### Ringraziamenti

Questa ricerca è stata parzialmente eseguita con fondi Interreg II. Gli autori desiderano ringraziare i cacciatori del CATO2 e il Brig. Aldo Tolosano, del Servizio Tutela della Flora e della Fauna della Provincia di Torino, per il supporto nella raccolta dei campioni.

#### Bibliografia

- BOUVIER G., BURGISSER H. & SCHNEIDER P.A. (1958) - La brucellosi del chamois. In *Les maladies des ruminants sauvages de la Suisse* pp.111-113. Fondation B. Galli Valerio (Ed.), Lausanne, Suisse.
- CORTI R., GIBERT P., GINDRE R., LANDRY P. & SARRAZIN C. (1984) - Données sur la biometrie et l'état sanitaire du chamois (*Rupicapra rupicapra*) dans le nord-est du massif des Ecrins (Hautes Alpes). *Project de publication pour Revue O.N.C. "Gibier et Faune Sauvage"* 78 pp.
- DEMATTEIS A., GENNERO S., MASOERO L. & MANDOLA M.L. (1995) - Monitoraggio di popolazioni selvatiche. *Medicina Veterinaria Preventiva*, 11: 4-6.
- DURAND T. (1994) - Le chamois et al brucellose, victime ou vecteur? *BIPAS*, 11: 59-70.
- FERROGLIO E., ROSSI L. & GENNERO S. (2000) - Lung tissue extract as an alternative to serum for surveillance of brucellosis in chamois. *Preventive Veterinary Medicine*, 43: 117-122

- FERROGLIO E., TOLARI F., BOLLO E. & BASSANO B. (1998) - Isolation of *Brucella melitensis* from Alpine Ibex. *Journal of Wildlife Diseases*, 34: 400-402.
- GARIN-BASTUJI B., OUDAR J., RICHARD Y. & GASTELLU J. (1990) - Isolation of *Brucella melitensis* Biovar 3 from a Chamois (*Rupicapra rupicapra*) in the Southern French Alps. *Journal of Wildlife Diseases*, 26: 116-118.
- GAUTHIER D., GILBERT P. & HARS J. (1991) - Sanitary consequences of mountain Cattle breeding on wild Ungulates. In: *Ongules/Ungulates 91 Proceeding of the International Symposium* (ed. F. Spitz, G. Janeau, G. Gonzales and S. Aulagnier), pp. 621-630. SFEPM-IRGM Paris-Toulouse France.
- GENNERO S., MENEGUZZI P.G., MANDOLA M.L., MASOERO L., DE MENEGHI D. & ROSSI L. (1993) - Indagini sierologiche su ruminanti selvatici in Piemonte. *Atti Societa Italiana Scienze Veterinarie*, 47: 979-983.
- GIACOMETTI M., TOLARI F., MANNELLI A. & LANFRANCHI P. (1995) - Indagini sieroepidemiologiche su stambecchi del Piz Albris nel Cantone dei Grigioni (Svizzera). *Schweizer Archiv fur Tierheilkunde*, 137: 537-542.
- GRETH A., CALVEZ D., VASSART M. & LEFÈVRE P.-C. (1992) Serological survey for bovine bacterial and viral pathogens in captive Arabian oryx (*Oryx leucoryx Pallas*, 1776) *Revue scientifique e technique Office international des Epizooties* 11: 1163-1168.
- HAMR J. (1984) - Home range size of male chamois, *Rupicapra rupicapra*, in the Tyrolean Alps, Austria. *Acta Zool. Fenn.* 33: 293-296.
- JULLIEN J.M., LOISON A. & PEPIN G. (1997) - Les mouvements individuel des chamois des Bauges. *Faune Sauvage*, Bull. Mens. Off. Nat. Chas., 226.
- LEON-VIZCAINO L., MOLERA M., GASCA A., GARRIDO F., RODRIGUEZ D. & HIERRO L. 1985. Serological survey of prevalence of antibodies to brucellosis in wild ruminants in Jaén (Spain). *Verhandlungsbericht des 27 Internationalen Symposiums über die Erkrankungen der Zootiere*, 27: 455-461.
- LEON-VIZCAINO (1991) - Ecopatologia de la Capra Montes (Capra pyrenaica) en la sierras de Cazorla (España). *Grupo stambecco Europa. IV incontro internazionale. Collana Scientifica PNGP*, 178: 1-13.
- MARTIN S.W., MEEK A.H. & WILLEBERG P. (1987) - *Veterinary Epidemiology. Principles and methods.* Iowa State University Press/AMES, 343 pp.
- MCCORQUODALE S.M. & DI GIACOMO R.F. (1985) - The role of wild north american Ungulates in the epidemiology of bovine brucellosis: a review. *Journal of Wildlife Disease* 21: 351-357.
- ROSSI L., GENNERO S. & TOLARI F. (1995) - Segnalazione di due casi di brucellosi nel camoscio. *Medicina Veterinaria Preventiva*, 10:19.
- REMENTZOVA M.M. (1964) - La Brucellosi des animaux sauvages. *Bulletin Office International des Epizooties*, 61: 99-112.
- SIMON A. & SARRAZIN C. (1992) - Enquête epidemiologique sur la faune sauvage dans le Departement des Hautes Alpes. *Bulleten Information Pathologies Animaux Sauvages en France*, 8: 105-114.
- TESSARO S.V. & FORBES L.B. (1986) - *Brucella suis* biotype 4: a case of granulomatous nephritis in a barren ground caribou (*Rangifer tarandus groenlandicus*) with a review of the distribution of rangiferine brucellosis in Canada. *Journal of Wildlife Diseases*, 22: 479-483.
- TOLARI F., MENEGUZZI P.G., DE MENEGHI D., ROSSI L. & MANCIANTI F. (1987) - Indagini sieroepidemiologiche su stambecchi, camosci ed ovis presenti nel Parco Naturale Argentera. *Atti del Convegno Internazionale "Lo Stambecco delle Alpi; realtà attuale e prospettive"* Valdieri, 17/19 Settembre 1987, 83-92.
- TOLARI F. & FARINA R. (1988) - Methods for the identification of *Brucella* isolates in use at the Animal Pathology Department, University of Pisa, result of eight years activity. *Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Pisa*, 41: 227-232.
- WAGHELA S. & KARSTAD L. (1986) - Antibodies to *Brucella* spp. among blue wildebeest and African buffalo in Kenya. *Journal of Wildlife Diseases*, 22: 189-192.

# INFLUENZA DELL'EUTROFIZZAZIONE SULLE POPOLAZIONI DI PARASSITI DI SCARDOLE

Galli P.\*, Crosa G.\*, Albricci O.\*, Tieghi K.\*, Cotta Ramusino M.<sup>o</sup>, Garibaldi L.\*

\*Dipartimento di Scienze dell'Ambiente e del Territorio, Università degli Studi di Milano-Bicocca, Via Emanuela 15 - 20126 Milano.

<sup>o</sup>Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale, Università dell'Insubria, Via Dunant 3 - 21100 Varese.

**Riassunto** - I valori di prevalenza e di intensità di infezione dei parassiti della fauna ittica sono valutati e commentati con riferimento al livello trofico degli ambienti studiati. I popolamenti studiati riguardano nello specifico *Ergasilus sieboldi*, *Lamproglana pulchella*, *Ligula intestinalis*, *Triaenophorus nodulosus* e i Glochidia del bivalve *Unio*. I risultati evidenziano un diverso effetto del fenomeno dell'eutrofizzazione nei confronti degli endo- ed ecto- parassiti. Questo porta ad ipotizzare l'esistenza di un *fingerprint* a livello delle comunità dei parassiti caratteristico delle condizioni qualitative dell'ambiente nel quale si sviluppano. In tal senso queste comunità potrebbero rivelarsi un utile strumento per il controllo biologico della qualità ambientale.

**Abstract** - Influence of eutrofication on *Scardinius erythrophthalmus* parasites. Prevalences and intensities of fish parasites are evaluated and commented with respect to the trophic level of the studied fish communities. *Ergasilus sieboldi*, *Lamproglana pulchella*, *Ligula intestinalis*, *Triaenophorus nodulosus* and the *Unio* spp. larval stage (Glochidia) are the examined parasites. Results show that the ecto- and the endoparasites populations respond differently to the level of eutrofication. This finding suggests that the parasites, are characterised by a *fingerprint* at community level, related to the quality of the water body in which they complete their life cycles. Within this context, the parasites communities could be considered a useful tool for the biological control of the environment quality.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 233 - 235

## 1. Introduzione

Vengono presentati e discussi i primi risultati relativi allo studio dei popolamenti di endo ed ectoparassiti di Scardole *Scardinius erythrophthalmus* prelevate in tre ambienti lacustri lombardi caratterizzati da un differente stato trofico: lago di Segrino (oligotrofo), lago di Montorfano (mesotrofo) e lago di Varese (eutrofo).

Il Lago del Segrino, con una concentrazione media annuale di fosforo di 16 µg P<sub>I</sub>-1 e valori di clorofilla molto contenuti, rientra oggi nella categoria dei laghi oligotrofi pur avendo un passato di eutrofia (Garibaldi & Varallo, 1995).

L'ultima indagine eseguita per il lago di Montorfano ha evidenziato valori medi di fosforo pari a 15,9 µg P<sub>I</sub>-1 e valori di trasparenza (media annua 4 m; min 2,5 m) e clorofilla (7,2 µg/l) che, secondo le valutazioni OCSE, collocano il lago nella categoria dei laghi mesotrofi (Garibaldi & Varallo, 1992). Il lago di Varese, che negli anni '50 ospitava specie ittiche di notevole pregio ed esigenti acque di elevata qualità quali la Trota *Salmo fario* ed il Coregone *Coregonus lavaretus*, ha subito successivamente un grave declino a causa del primo caso conclamato di eutrofizzazione in Italia.

Nonostante gli interventi finora adottati, il suo livello trofico permane ancora elevato: valori

medi di fosforo pari a circa 100 µg P<sub>I</sub>-1; trasparenza minima di 1 m, e media di 3, 5 nel 1997 (Cotta Ramusino, comunicazione personale).

Il termine eutrofizzazione (dal greco *eu trophia*: buona nutrizione) definisce una condizione di arricchimento delle acque in elementi nutritivi (generalmente sali di fosforo e azoto) che determina un incremento abnorme della biomassa vegetale, la cui decomposizione aerobica provoca una generale riduzione della qualità dell'acqua dovuta alle condizioni anossiche che possono verificarsi negli strati più profondi del bacino.

Obiettivo dello studio è quello di fornire evidenze sperimentali sulle relazioni esistenti tra i popolamenti dei parassiti e la complessa articolazione dei sistemi ecologici in cui questi sono distribuiti. A tale scopo le variazioni di prevalenza e del grado di infezione delle popolazioni dei parassiti della fauna ittica sono state valutate in ambienti lacustri di diverso livello trofico; cioè in sistemi nei quali i vari comparti ambientali, come ad esempio le acque pelagiche e quelle di fondo, risultano diversamente alterati. Essendo i cicli vitali dei parassiti definiti da diversi stadi di sviluppo che generalmente vengono completati in più comparti ambientali, questo piano sperimentale ha consentito di verificare in natura la diversa sensibilità dei

parassiti esaminati nei confronti di fattori perturbanti. Tale sensibilità non solo risulta definita dall'intensità del fenomeno in atto, ma è determinata anche dalla complessità del ciclo vitale del parassita e di conseguenza dal numero di comparti ambientali interessati per il suo completamento.

Se le informazioni riguardanti le relazioni tra il grado di inquinamento delle acque e le alterazioni delle comunità di organismi che conducono vita libera sono ormai sufficientemente note, poco si sa sulle modificazioni che interessano le comunità dei parassiti della fauna ittica. Così come avviene per gli organismi che conducono vita libera, è ragionevole supporre che almeno alcune categorie di parassiti siano anch'esse sensibili alla qualità dell'ambiente in cui vivono.

I fattori che regolano i cicli vitali dei parassiti sono sia abiotici (temperatura, salinità, ossigeno, ammoniaca, pH ecc.) che biotici (risposta immunologica dell'ospite, dieta e modalità di nutrizione dell'ospite, disponibilità di ospiti intermedi infettati) (Williams & Jones, 1994).

Secondo MacKenzie *et al.* (1995) i parassiti più sensibili al degrado della qualità ambientale sarebbero quelli con i cicli vitali più complessi, che comprendono diversi stadi di sviluppo su ognuno dei quali si potrebbero registrare effetti differenti imputabili all'inquinamento. Molte specie di elminti, per esempio, presentano diversi stadi di sviluppo ognuno dei quali potenzialmente sensibile ai cambiamenti della qualità dell'ambiente. Gli effetti di fattori inquinanti possono esprimersi a livello di individuo, di popolazioni e di comunità. Al primo livello è stato dimostrato che si possono verificare delle anomalie a carico dei diversi organi del parassita. Kuperman (1992) ha messo in evidenza la comparsa di aberrazioni nelle strutture di attacco di alcuni Monogenei (*Diplozoon sp.*) prelevati da pesci viventi in ambienti inquinati. A livello di popolazione si possono riscontrare variazioni nelle intensità e nelle prevalenze come hanno osservato Galli *et al.* (1998a) per popolazioni di Acanthocefali prelevati in acque correnti con differente grado d'inquinamento.

A livello della comunità, variazioni nei valori degli indici strutturali di diversità di Shannon e di dominanza di Simpson sono stati rinvenuti in laghi caratterizzati da differenti livelli di trofia (Galli *et al.*, 1998b).

Con specifico riferimento al fenomeno dell'eutrofizzazione, studi condotti in Finlandia nel 1987 (Valtonen & Koskivaara, 1987) hanno indicato una più elevata densità di crostacei

*Argulus foliaceus* in pesci (*Rutilus rutilus* e *Perca fluviatilis*) di laghi eutrofizzati rispetto a quelli di ambienti oligotrofici. Un risultato analogo è stato ottenuto da Valtonen & Taskinen (1988) per alcuni Digenei: gli Autori hanno osservato un incremento della prevalenza di *Rhipidocotyle campanula* in pesci prelevati da laghi eutrofizzati rispetto a quelli di laghi meno ricchi di nutrienti.

## 2. Materiali e metodi

Durante l'autunno '97 e la primavera '98 sono state campionate 71 Scardole: 21 dal Segrino (13 in primavera, 8 in autunno), 31 dal Montorfano (20 in primavera, 11 in autunno) e 20 dal Varese (10 sia in primavera sia in autunno).

Ciascun esemplare è stato sottoposto ad esame parassitologico a carico di branchie, tubo digerente, vescica natatoria e bulbi oculari.

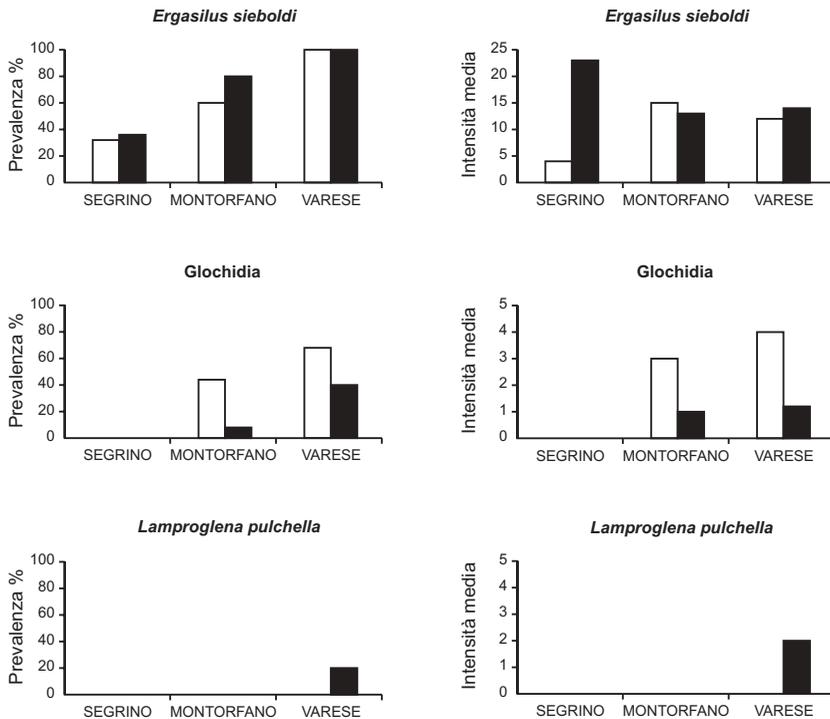
Le Scardole campionate presentano i seguenti caratteri morfometrici: Segrino lunghezza media 22.1 cm (10, 5 - 24,2 cm), Montorfano 23.2 cm (17-29 cm) e Varese 25.4 cm (21-32,5 cm). Per ciascun pesce è stato calcolato il coefficiente di condizione (K) secondo la seguente equazione  $K = W / L^3$ , dove W è il peso in grammi e L la lunghezza standard in mm. Per il confronto del coefficiente di condizione mostrato dalle popolazioni ittiche campionate nei tre laghi è stato impiegato il test non parametrico Mann-Whitney U-test calcolato mediante l'utilizzo di una macro per fogli elettronici. Infine, per ciascuna popolazione di parassiti si è provveduto al calcolo della prevalenza, dell'intensità minima e massima, dell'intensità media e dell'abbondanza così come definiti da Bush *et al.* (1997).

## 3. Risultati

Nelle Scardole prelevate dai tre laghi il coefficiente di condizione non mostra differenze statisticamente significative secondo il test U di Mann-Whitney ( $p < 0.05$ ).

In fig. 1 e 2 sono riportati i valori di prevalenza, intensità, intensità media e abbondanza calcolate per ciascuna popolazione di parassiti, tutti determinati a livello specifico.

Oltre ai taxa riportati in tabella sono stati rinvenuti dei Nematodi (alcuni appartenenti alla specie *Molnaria intestinalis*), Digenei e Monogenei (*Diplozoon sp.*) ancora in fase di determinazione. Nel presente lavoro sono state analizzate e discusse esclusivamente le popolazioni relative ai parassiti di cui è stata possibile la determinazione specifica, in particolare: *E. sieboldi*, *L. pulchella*, *L. intestinalis*, *T. nodulosus* e i Glochidia. I valori di prevalenza, di intensità media e di abbondanza illustrati per ogni



**Fig. 1** – Prevalenza e Intensità Media calcolata per ciascuna popolazione di ectoparassiti prelevati scardole (*Scardinius erythrophthalmus*) raccolte in tre laghi caratterizzati da differente livello trofico: Segrino, oligotrofo; Montorfano, mesotrofo; Varese, eutrofo. Le barre bianche si riferiscono ai campionamenti effettuati nell'autunno del 1997, quelle scure alla primavera 1998.

singola unità sistematica, portano a rilevare una differenza nella distribuzione dei popolamenti presenti nei tre laghi considerati (Fig. 1 e 2). In particolare nel caso di limitata trofia si osservano elevate prevalenze e intensità di endoparassiti (*L. intestinalis* e *T. nodulosus*), in condizioni di più elevata trofia si registrano maggiori prevalenze per gli ectoparassiti *L. pulchella*, *E. sieboldi* e i *Glochidia*.

Per quanto riguarda i Crostacei della specie *E. sieboldi*, essi sono stati trovati sulle branchie di tutte le Scardole esaminate.

Seppur questo lavoro non aveva come oggetto specifico lo studio delle dinamiche stagionali dei popolamenti dei parassiti le variazioni temporali evidenziate dai risultati possono essere in parte attribuite alle caratteristiche ecologiche proprie delle singole specie.

#### 4. Discussione

I risultati ottenuti suggeriscono che uno stato di elevata trofia favorisce lo sviluppo degli ectoparassiti; una spiegazione a tale riguardo

può essere ricercata nel fatto che le acque ricche di nutrienti non solo promuovono l'aggregazione dei pesci ospiti, facilitando la diffusione degli ectoparassiti (Möller, 1987), ma possono anche avere l'effetto di accrescere la popolazione favorendo la riproduzione (Mackenzie *et al.*, 1995). Ad esempio, il maschio di *E. sieboldi*, a differenza della femmina, conduce vita libera come elemento dello zooplancton. L'elevata densità di quest'ultimo, che viene favorita da un incremento del livello trofico come nel caso del lago di Varese, potrebbe essere una delle cause di diffusione di questo Crostaceo.

Gli endoparassiti, al contrario, presentano maggiori prevalenze nei laghi meno eutrofizzati. Questi organismi sono caratterizzati da cicli vitali molto complessi: i passaggi da una fase all'altra sono delicati e risentono notevolmente dei cambiamenti ambientali (Mackenzie *et al.*, 1995). Le uova dei cestodi *Triaenophorus* e *Ligula*, ad esempio, escono dall'ospite definitivo (uccello) tramite le feci, cadono sul fondo del lago e qui, negli ambienti a maggior trofia

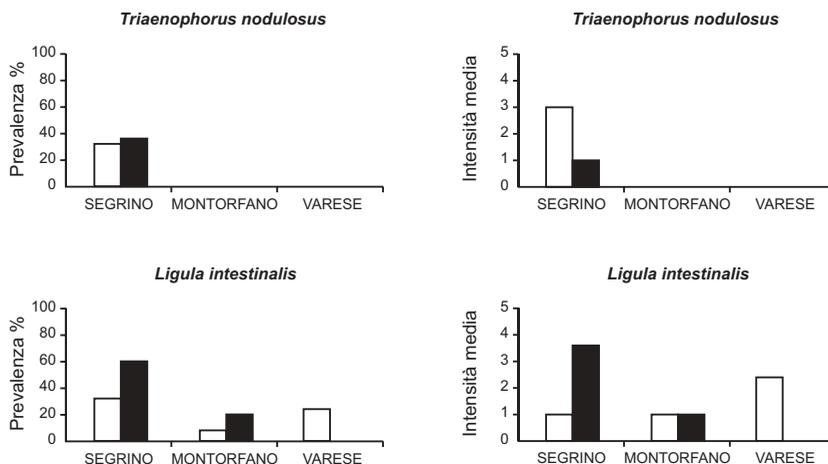


Fig. 2 – Prevalenza e Intensità Media calcolata per ciascuna popolazione di endoparassiti prelevati scardole (*Scardinius erythrophthalmus*) raccolte in tre laghi caratterizzati da differente livello trofico: Segrino, oligotrofo; Montorfano, mesotrofo; Varese, eutrofo. Le barre bianche si riferiscono ai campionamenti effettuati nell'autunno del 1997, quelle scure alla primavera 1998.

caratterizzati da basse concentrazioni di ossigeno, se non da anossia per molti mesi all'anno, possono essere particolarmente vulnerabili, con la possibile conseguente interruzione del ciclo.

Il fenomeno dell'eutrofizzazione sembra quindi operare una diversa selezione sulle categorie dei parassiti della fauna ittica è possibile quindi ipotizzare che le comunità costituite da tali organismi risultino strutturate con precisi rapporti tassonomici tali da costituire una sorta di *fingerprint* delle condizioni qualitative dell'ambiente nel quale si sviluppano.

Dal momento che i fattori perturbativi che possono interessare la qualità delle acque lacustri sono soprattutto eutrofizzazione, inquinamento tossico e organico è altresì possibile ipotizzare che tali *fingerprint* risultino caratteristici di queste specifiche situazioni. In questo senso le comunità dei parassiti potrebbero rivelarsi quindi un utile strumento per il controllo biologico della qualità ambientale.

## Bibliografia

- BUSH A.O., LAFFERTY K.D., LOTZ J.M. & SCHOSTAK A.W. (1997) - Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *The Journal of Parasitology*, 83: 575-583.
- GALLI, P., MARINIELLO L., CROSA G., ORTIS M., OCCHIPINTI AMBROGI & D'AMELIO S. (1998a) - Populations of *Acanthocephalus anguillae* and *Pomphorhynchus laevis* in different condition of pollution. *Journal of Helminthology*, 72(4):331-335.
- GALLI, P., TIEGHI K., CROSA G., GARIBALDI L. & OCCHIPINTI AMBROGI. (1998b) - Fish parasite com-

munities from lakes with different trophic conditions. XX Congresso Società Italiana di Parassitologia. Roma, 17-20 giugno 1998.

- GARIBALDI L. & VARALLO A. (1992) - *Lago di Montorfano 1991-1992 Rapporto sulle condizioni idrobiologiche*. Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Biologia Sezione di Ecologia. 206 pp.
- GARIBALDI L. & VARALLO A. (1995) - *Il Lago del Segrino. Verifica dello stato di trofia anni 1991-92-95*. Università degli Studi di Milano. Dipartimento di Scienze dell'Ambiente e del Territorio. 170 pp.
- KUPERMAN B. I. (1992) - Fish parasites as bioindicators of the pollution of bodies of water. *Parazitologija*. 26: 479-82
- MACKENZIE K., WILLIAMS H.H., WILLIAMS B., MCVICAR A. H & SIDDALL R. (1995) - Parasites as indicators of water quality and the potential use of helminth transmission in marine pollution studies. *Adv. Parasit.*, 35: 85-144.
- MÖLLER H. (1987) - Pollution and parasitism in the aquatic environment. *International Journal for Parasitology*, 17: 353-361.
- VALTONEN E.T. & KOSKIVAARA M. (1987) - The effect of environmental stress on trematodes of perch and roach in central Finland (Abstract). In: *Actual Problems in Fish Parasitology*. p 103. 2nd International Symposium of Ichthyoparasitology Tihany, Hungary.
- VALTONEN, E. T. & TASKINEN J. (1988) - *Rhipidocotyle campanula* in its first and second intermediate hosts in central Finland; associated with pollution?. *5th European Multicolloquium of Parasitology*, Hungary, p. 110.
- WILLIAMS H. & JONES A. (1994) - *Parasitic worms of fish*. Taylor & Francis London Ltd. p. 593

# GESTIONE SANITARIA DEI PUNTI DI ALIMENTAZIONE ARTIFICIALE PER I CARNIVORI SELVATICI NEL PARCO NAZIONALE D'ABRUZZO

Gentile L.\*, Scioli E.\*\*

\* Centro Studi Ecologici Appenninici, Parco Nazionale d'Abruzzo, Viale Santa Lucia – 67032 Pescasseroli (AQ)

\*\* Azienda Sanitaria Locale di Avezzano-Sulmona, Distretto di Castel di Sangro, Via Umberto I° - 67031 Castel di Sangro (AQ)

**Riassunto** - Si intende per punto di alimentazione artificiale il mettere a disposizione dei carnivori selvatici a vita libera dell'alimento in genere di origine animale ma anche vegetale, in zone strategiche del territorio, di cui tali animali possano nutrirsi. Di per se quindi il punto di alimentazione artificiale rappresenta una misura di gestione faunistica estremamente delicata sotto vari aspetti quali: sanità dell'alimento utilizzato, possibile fonte di trasmissione inter ed intra-specifica di agenti patogeni, possibili alterazioni comportamentali sulle specie che ne usufruiscono. L'esperienza acquisita in tal senso al Parco Nazionale d'Abruzzo dove vivono consistenti popolamenti di ungulati e popolamenti di grandi e piccoli carnivori protetti, è particolarmente significativa. Scopo del presente lavoro è quello di individuare precisamente le motivazioni dell'attivazione dei punti di alimentazione artificiale per i carnivori, definirne le caratteristiche, stabilire dei meccanismi di controllo, vigilanza e certificazione prima, durante e ad esaurimento del punto di alimentazione.

**Abstract** - Health management of artificial feeding points for wild carnivores in the Abruzzo National Park. An artificial feeding point is meant as a station were to leave at disposal to wild carnivores some food, usually of animal but also vegetal origin, in strategic areas of the territory. Therefore an artificial feeding point represents a measure of wildlife management extremely delicate under different aspects, such as; healthiness of the food used, possible source of inter and intra-specific transmission of pathogenic agents, possible behavioural alterations of the species that use them. The experience acquired at Abruzzo National Park, were there are consistent populations of ungulates and small or large protected carnivores, is particularly significant. The scope of this work is to precisely define the motivations for the activation of artificial feeding points for carnivores, define their characteristics, establish some mechanisms of control, vigilance and certification before, during and after the activation of the feeding point.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 237 - 240

## 1. Introduzione

Nel Parco Nazionale d'Abruzzo vivono stabilmente, oltre a consistenti popolamenti di ungulati selvatici (Cervo, Capriolo, Cinghiale e Camoscio d'Abruzzo), anche alcune specie di grandi carnivori particolarmente importanti e protetti dalla legislazione nazionale e comunitaria, quali l'Orso bruno marsicano (*Ursus arctos marsicanus*) ed il Lupo Appenninico (*Canis lupus*) ed anche popolazioni di piccoli carnivori (mustelidi e volpi) e di uccelli rapaci.

Tale situazione faunistica, caratterizzata dalla presenza di ungulati e carnivori, cioè prede e predatori, rappresenta in Italia, almeno in linea teorica, la situazione ideale, in quanto esiste la catena alimentare completa, per la cui conservazione va garantito il massimo sforzo, anche dal punto di vista sanitario.

Tra le attività umane è abbastanza diffuso l'allevamento di ovi-caprini, di bovini e di equini, che nel periodo estivo condividono con la fauna selvatica i pascoli di media ed alta quota. Probabilmente perché non si aveva la consapevolezza del rischio, in questa area protetta ed anche in altre dell'Appennino, in passato si è

fatto ricorso, anche in modo massiccio e per i motivi più disparati, all'attivazione di punti di alimentazione artificiale per i grandi carnivori, che rappresentano, per i motivi che analizzeremo di seguito, un intervento di gestione faunistica particolarmente delicato dal punto di vista sanitario.

Dall'inizio del 1997 i punti di alimentazione nel Parco Nazionale d'Abruzzo sono stati sospesi in attesa di una regolamentazione, in accordo con le autorità sanitarie.

La constatazione, attraverso indagini sierologiche o anatomo-patologiche condotte da vari autori, della circolazione di molti agenti patogeni, alcuni anche a carattere zoonotico, nei popolamenti di carnivori protetti dell'Appennino centrale (Guberti *et al.*, 1992; Fico *et al.*, 1996; Marsilio *et al.*, 1997; Tiscar *et al.*, 1997; Colli, 1997) e la constatazione, attraverso rilievi anatomo-patologici e di vigilanza sanitaria, della presenza di dermatiti parassitarie nella fauna selvatica, nella cui epidemiologia sicuramente hanno rivestito un ruolo non secondario i punti di alimentazione artificiale, ci ha indotto a regolamentare l'utilizzazione dei rifiuti di ori-

gine animale e vegetale per questi scopi. Pertanto, anche in considerazione della necessità di uniformare alla recente normativa nazionale lo smaltimento e l'utilizzazione per questi scopi dei rifiuti di origine animale e per riportare questo strumento di gestione faunistica, estremamente delicato ed importante di cui spesso si è abusato, nelle mani di quelle figure professionali che hanno le cognizioni tecniche per una sua corretta utilizzazione, è stato predisposto un apposito Protocollo Operativo, richiedendo al Ministero della Sanità apposita autorizzazione.

Il Ministero della Sanità, Dipartimento Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria, ai sensi dell'art. 7 del D.L.vo 508/92, con nota n° 600.8/508/3740, ha consentito l'utilizzazione dei rifiuti di origine animale per tale scopo.

## 2. Definizione di punto di alimentazione artificiale

Si intende per punto di alimentazione artificiale il collocare in zone strategiche del territorio, dell'alimento, a disposizione dei carnivori selvatici, in genere Orso o Lupo, di cui tali animali possano nutrirsi. Tale alimento è generalmente di origine animale, ma per l'Orso bruno marsicano comunque, essendo un "carnivoro facoltativo", è possibile utilizzare anche alimenti di origine vegetale, quali carote o frutta. Logicamente usufruiranno di questi alimenti in misura diversa, oltre ai grandi carnivori, anche molte specie opportuniste quali volpi, mustelidi, uccelli carnivori (rapaci e corvidi), nonché cani inselvatichiti presenti in quella determinata zona.

Per gli alimenti vegetali (mele, carote, mais) nel Parco nazionale d'Abruzzo è stata regolarmente osservata la frequentazione del punto di alimentazione, oltre all'orso, anche di cinghiali e cervi.

## 3. Motivazioni che giustificano l'attivazione dei punti di alimentazione artificiale

Le motivazioni che giustificano l'attivazione dei punti di alimentazione artificiale per i carnivori selvatici sono esclusivamente le seguenti:

- Rischio di sconfinamenti in zone particolarmente rischiose per i carnivori selvatici; non dimentichiamo che comunque il Parco ha dei confini amministrativi, all'esterno dei quali non è possibile garantire la sopravvivenza di animali come l'Orso bruno marsicano o il Lupo che sarebbero sottoposti a rischi notevoli quali il bracconaggio o semplicemente l'eccessiva

antropizzazione con tutti i rischi connessi;

- Sostegno alimentare a tali specie protette in particolari periodi "critici" (pre e post letargo, periodo dei parti), oppure in stagioni particolarmente svantaggiose dal punto di vista climatico;
- Ricerca scientifica e interventi di gestione faunistica: necessità di effettuare catture o punti di osservazione/rilevamento, per studi di vario tipo sulle specie protette;

## 4. Caratteristiche dei Punti di Alimentazione Artificiale

Essi devono avere le seguenti caratteristiche:

- essere limitati nel tempo: per non alterare eccessivamente il comportamento delle specie animali che ne usufruiscono;
- essere limitati nello spazio: i siti dove verranno depositati gli alimenti devono essere individuati geograficamente in base a criteri precisi (specie a cui sono destinati, caratteristiche del territorio);
- sanità dell'alimento utilizzato: l'alimento, di origine animale o vegetale, deve essere sano dal punto di vista delle malattie infettive diffuse e dalle più comuni endo ed ecto-parassitosi;
- vigilanza sanitaria: devono essere stabiliti dei sistemi di controllo e certificazione, prima, durante e ad esaurimento del punto di alimentazione artificiale.

## 5. Rischi sanitari dei Punti di Alimentazione Artificiale

I rischi sanitari connessi ai punti di alimentazione artificiale sono molteplici, ma riconducibili essenzialmente a tre aspetti fondamentali quali: l'alimento utilizzato, la frequentazione promiscua e spesso contemporanea di più specie selvatiche e l'ubicazione sul territorio.

Per rischio sanitario legato all'alimento utilizzato, va inteso, per gli alimenti di origine animale, la probabilità di trasmettere agli animali che se ne nutrono, eventuali agenti patogeni (virali, batterici e parassitari), che riconoscono come via di trasmissione, la via digerente o inalatoria o il contatto diretto. A titolo di esempio è possibile citare l'idatidosi-echinococcosi, la brucellosi, la trichinellosi, le rogne ed altre.

Per gli alimenti di origine vegetale, va intesa la probabilità di veicolare eventuali agenti inquinanti (pesticidi usati in agricoltura), che possono determinare nel medio e lungo periodo, delle manifestazioni cliniche da intossicazione cronica a carico di diversi organi ed apparati, legate all'effetto di accumulo di queste sostanze. Per rischio sanitario determinato dalla frequen-

tazione promiscua e spesso contemporanea di più specie selvatiche va intesa la possibilità di trasmissione, inter ed intra specifica, di eventuali patologie (soprattutto parassitarie, ma anche virali e batteriche) da parte di soggetti portatori, trasmissione che può avvenire o per contatto diretto, o per disseminazione sul terreno, oppure la possibilità di disseminazione nel territorio degli agenti patogeni, alcuni dei quali particolarmente resistenti nell'ambiente, tramite gli uccelli.

Infine per rischio sanitario legato alla ubicazione sul territorio va intesa la possibilità di veicolare eventuali agenti patogeni attraverso i corsi di acqua, o la possibilità di inquinare falde acquifere.

Un altro rischio, non propriamente sanitario, ma ugualmente importante, determinato dalla frequentazione costante del punto di alimentazione rifornito per lunghi periodi che rappresenta comunque una fonte alimentare di facile accesso, è legato alle densità non naturali di animali selvatici che si vengono inevitabilmente a determinare. A questo proposito è interessante notare che sono stati osservati orso e cinghiali alimentarsi insieme senza alcuna reazione aggressiva e non sono stati documentati casi di predazione nelle immediate vicinanze del punto di alimentazione artificiale. Ciò determina innanzitutto una "diseducazione alimentare" del predatore, che avendo dell'alimento di facile accesso si disabituava alla predazione; inoltre può verificarsi un progressivo abbassamento della naturale diffidenza dei selvatici, con gravi ripercussioni sull'etologia della specie e possibili aggravio della situazione epidemiologica.

## 6. Discussione

Scopo principale di questo lavoro è quello di proporre delle regole tecniche appropriate qualora si faccia ricorso ai punti di alimentazione artificiale per i carnivori selvatici.

Tali regole igieniche di base, a prescindere da considerazioni di tipo statistico o gestionale comunque importanti, se attuate regolarmente con la supervisione di quelle figure professionali (veterinari e biologi) che hanno le cognizioni tecniche adeguate, consentiranno di ridurre le probabilità di trasmissione di agenti patogeni alla fauna selvatica e quindi in definitiva alla sanità di questi popolamenti animali.

Il concetto di sanità della fauna selvatica è fondamentale e da perseguire in un territorio come quello Italiano, fortemente antropizzato e dove le interazioni, volontarie o involontarie, uomo/fauna/bestiami domestico/territorio sono

notevoli sia per qualità sia per quantità.

Logicamente queste misure hanno un senso solo se accompagnate alla puntuale attuazione di tutti quei programmi di management sanitario degli allevamenti di bestiame domestico, alla puntuale attuazione dei piani di risanamento obbligatori per le malattie soggette ad eradicazione, nonché alla rigorosa attuazione dei provvedimenti di Polizia veterinaria in caso di focolai di malattie infettive del bestiame.

Nel protocollo, reperibile presso l'autore, dopo la citazione della normativa in materia, vengono stabilite le regole base sulla individuazione dei siti per i punti di alimentazione artificiale, sull'origine, sanità e trasporto degli alimenti di origine animale e vegetale, sulla vigilanza sanitaria e sulla certificazione mediante appositi modelli, sulla accessibilità al Servizio veterinario alla eventuale documentazione foto-video e sulla rimozione periodica dei resti.

I siti potenziali idonei, scelti in base alle caratteristiche specificate nel protocollo, vanno individuati in congruo numero in zone particolarmente significative in base alla presenza dei grandi carnivori. Ciò non significa assolutamente che questi siti diventino perennemente dei punti di alimentazione attivi, ma lo saranno solo quando se ne presenteranno le necessità che ne giustificano l'attivazione.

Per la ri-attivazione di un determinato sito sarà logicamente necessario attendere i tempi utili (ordine di grandezza: alcuni mesi) per ottenere una disattivazione naturale degli agenti infettivi e parassitari eventualmente depositatisi sul terreno.

Particolare attenzione va posta nella ispezione sanitaria delle carcasse, che, accertata la sanità di origine, cioè l'indennità da malattie soggette ad eradicazione, deve essere effettuata mediante esame ispettivo degli organi interni volto ad escludere la presenza di malattie endo ed ecto parassitarie, anatomo-patologicamente riconoscibili. E' inoltre prevista la possibilità di utilizzare le carcasse di ungulati rinvenuti morti, sempre rispettando la procedura di ispezione sanitaria e di certificazione.

Tutta questa procedura viene documentata attraverso un apposito certificato, in cui è riportato, oltre all'indennità da malattie soggette ad eradicazione, anche i dati identificativi della carcassa, la quantità approssimativa dell'alimento, le generalità del proprietario, l'esito favorevole della visita sanitaria e la località di destinazione.

Il protocollo prevede inoltre l'istituzione del Registro dei punti di alimentazione artificiale

in cui vengono riportate tutte le informazioni di cui sopra, oltre alla data di attivazione e di esaurimento del punto di alimentazione e le specie selvatiche che lo hanno frequentato.

I punti di alimentazione artificiale per i carnivori selvatici rappresentano, per i motivi suddetti, un intervento di gestione faunistica estremamente delicato, sia dal punto di vista sanitario, sia dal punto di vista etologico, di cui spesso e per i motivi più disparati si è abusato.

Il presente contributo vuole innanzitutto richiamare l'attenzione su questi temi e tentare di fare chiarezza sui rischi e sulle modalità di attuazione di uno strumento che, se attuato con i dovuti accorgimenti, può essere di notevole aiuto nella gestione faunistica di specie particolarmente delicate, ma se attuato con leggerezza e approssimazione, essendo estremamente carico di rischi, potrebbe potenzialmente recare danni notevoli, soprattutto in quelle piccole popolazioni di carnivori selvatici, Orso e Lupo soprattutto, in cui alcune malattie, particolarmente pericolose, potrebbero incidere irreversibilmente sulla dinamica di popolazione e quindi sulla capacità di sopravvivenza della specie.

### 7. Ringraziamenti

Si ringrazia la Direzione del Parco Nazionale d'Abruzzo e la Responsabile del Servizio Scientifico Ambientale per la sensibilità dimostrata a queste problematiche, avendo consentito di affrontare e regolamentare un aspetto della gestione faunistica estremamente delicato. Si ingrazia inoltre il Dr. Hans U. Roth per la revisione del lavoro e per gli utili suggerimenti

e la Sig.na Ambra Catalanotti per la traduzione del riassunto.

### Bibliografia

- GUBERTI V., FRANCISCI F., ANDREOTTA U., ANDREOLI ANDREONI A. (1992) - Echinococcus Granulosis in Wolf (*Canis lupus*) in Italy. *Atti del XV Extraordinary International Congress of Hydatidology*. Roma 4-8-novembre 1991.
- FICO R., MARSILIO F., TISCAR P.G. (1996) - Indagine sulla presenza di anticorpi contro il virus della parvovirus canina, del cimurro, dell'epatite infettiva del cane, il coronavirus del cane e l'Ehrlichia canis in sieri di Lupo (*Canis lupus*) dell'Italia centrale. In: Spagnesi M. V. Guberti e M.A. De Marco (Eds) (1996) *Atti del Convegno Nazionale di Ecopatologia della Fauna Selvatica. Suppl. Ric. Biol. Selvaggina*, XXIV: 147-143.
- COLLI B. (1997) *L'Orso bruno marsicano del Parco Nazionale d'Abruzzo: indagine sulle principali patologie infettive*. Tesi di laurea in Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Teramo, Anno Accademico 1996-1997.
- MARSILIO F., P.G. TISCAR, L. GENTILE, H.U. ROTH, BOSCAGLI G., TEMPESTA M., GATTI A. (1997) A serologic survey for selected viral agents in Marsican brown bears (*Ursus arctos marsicanus*) and European brown bears (*Ursus arctos*) from the Abruzzo National Park (Italy). *Journal of Wildlife Disease*, 33(2), 1997, pp 304-307
- TISCAR P.G., MARSILIO F., GENTILE L., ROTH H. U., GATTI A. (1997) A Serological Survey for Parvovirus-2, Canine Distemper Virus, Canine Adenovirus-2, Canine Coronavirus and Leishmania spp. in Marsican Brown bear (*Ursus arctos* L., *Ursus arctos marsicanus*) from the Abruzzo Nazionale Park (Italy). *Atti della Società Italiana di Scienze Veterinarie*, Volume LI pag. 309-310.

# IMPIEGO DELLA MISCELA DI HELLABRUNN NELLA IMMOBILIZZAZIONE CHIMICA DI LINCI IN CATTIVITÀ

Gentile L., Mari F., Roth H. U.

Centro Studi Ecologici Appenninici - Parco Nazionale d'Abruzzo Viale Santa Lucia - 67932 Pescasseroli (AQ)

**Riassunto** - Dal maggio 1991 al febbraio 1998, sono state effettuate con varie finalità 37 immobilizzazioni chimiche di linci europee (*Lynx lynx*), su 8 soggetti diversi, di cui 2 femmine e 6 maschi. Come anestetico è stata impiegata la miscela di Hellabrunn (xilazina/ketamina), mentre sono stati impiegati due diversi  $\alpha^2$  antagonisti per ottenere la reversione dell'anestesia: l'idazoxan in 8 immobilizzazioni e l'atipamezolo in 23 immobilizzazioni. Inoltre in 6 immobilizzazioni è stato ottenuto il risveglio spontaneo. Per ogni immobilizzazione sono stati rilevati, oltre ai dosaggi degli anestetici, i tempi di induzione, di anestesia e di recupero e i principali parametri fisiologici quali: la temperatura rettale, la frequenza respiratoria e la frequenza cardiaca. Scopo del presente lavoro è di valutare criticamente l'affidabilità sul campo sia della miscela anestetica, sia degli antagonisti e di valutare le conseguenze cliniche sull'animale tramite l'analisi critica dei principali parametri fisiologici.

**Abstract** - Use of Hellabrunn mixture in chemical immobilisation of lynxes in captivity. From May 1991 to February 1998, 37 chemical immobilisations on 8 European lynxes *Lynx lynx*, 2 of which were females and 6 males, were carried out with the aim of establish the reliability on the field of both the anaesthetic mixture and antagonists and to estimate their clinical consequences on the animal through the analysis of the main physiological parameters. Hellabrunn mixture (xilazine/ketamine) was used as anaesthetic, while two different  $\alpha^2$  antagonists were used to obtain the reversion of the anaesthesia: idazoxan, used in 8 immobilisations and atipamezole, used in 23 immobilisations. Furthermore, in 6 immobilisations there was a spontaneous awakening. For each immobilisation, besides the dosages of the anaesthetics, induction time, anaesthesia time and recovery time were measured, as well as the physiological parameters of rectal temperature and breathing and cardiac frequency.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 241 - 244

## 1. Introduzione

Il Parco Nazionale d'Abruzzo ha ospitato complessivamente in apposite strutture quali: il Parco Faunistico di Pescasseroli (AQ) e l'Area Faunistica di Civitella Alfedena, 8 esemplari di Lince europea (*Lynx lynx*) per scopi didattico-educativi. Attualmente gli esemplari detenuti sono 5, essendosi registrato, nel corso di questi anni, il decesso per cause naturali di 1 femmina e di 2 maschi. L'acquisizione di dati sul loro stato sanitario, i trasferimenti di animali, l'effettuazione di interventi chirurgici, hanno posto come necessità di base la possibilità di poter manipolare le Linci in condizioni di sicurezza, sia per gli animali sia per gli operatori.

In passato per questi scopi è stata molto usata la Ketamina cloridrato (Hatlapa & Wiesner, 1990) che comunque in questi animali presentava dei limiti quali: durata di effetto limitata a 12 - 15 minuti; tempo di emivita estremamente ridotto di circa 15 minuti (Quintavalla & Signorini, 1992); comparsa quasi costante di effetti collaterali quali tremori, scarso rilassamento o rigidità muscolare, vocalizzazioni e scuotimenti della testa (Hatlapa & Wiesner, 1988).

Per ovviare a questi inconvenienti e considerati i buoni risultati ottenuti su altri carnivori sel-

vatici (Gentile *et al.*, 1996a; 1996b) abbiamo deciso di sperimentare una associazione anestetica che comprendesse la Ketamina combinata con farmaci  $\alpha^2$  agonisti. Abbiamo scelto di impiegare la miscela di Hellabrunn, costituita da Ketamina e Xilazina nel rapporto di 1:1,25, perché presenta dei vantaggi notevoli dal punto di vista pratico, quali: facilità nella preparazione del dosaggio volumetrico, stabilità della miscela per lunghi periodi, se conservata al riparo dalla luce (Hatlapa & Wiesner, 1988).

## 2. Materiali e metodi

Nel periodo maggio 1991 - febbraio 1998, sono state effettuate per visita clinica, terapie, trasferimenti, trattamenti antiparassitari, interventi chirurgici, 37 immobilizzazioni chimiche di Linci *Lynx lynx* ospitate o nell'area faunistica di Civitella Alfedena (un recinto dell'estensione di circa 1 ettaro), oppure nel Parco Faunistico di Pescasseroli, dove gli animali sono tenuti in gabbie delle dimensioni di 5x5x4 mt circa.

L'anestesia è stata indotta mediante la somministrazione di miscela di Hellabrunn, 1 ml della quale contiene 125 mg di Xilazina cloridrato (Rompun S.S., BAYER) e 100 mg di Ketamina cloridrato (Inoketam 1000, VIRBAC). La som-

ministrazione della miscela è stata effettuata mediante teleanestesia, utilizzando la strumentazione della Telinject (fucile lanciasiringhe mod. GUT 50, carbotana Telinject), a dosaggi volumetrici iniziali calcolati in base alla stima a vista del peso corporeo, a cui venivano aggiunte 150 U.I. di Jaluronidasi per un più rapido assorbimento in circolo degli agenti anestetici. L'avvicinamento e quindi la manipolazione dell'animale, avveniva non prima di 10 minuti da quando l'animale era a terra e il grado di profondità dell'anestesia veniva valutato mediante il rilievo del riflesso auricolare.

Delle 37 immobilizzazioni complessive effettuate con la Miscela di Hellabrunn, in 6 è stato atteso il risveglio spontaneo, mentre nelle restanti 31, sono stati somministrati due specifici  $\alpha^2$  antagonisti.

Precisamente in 8 immobilizzazioni è stato impiegato l'Idazoxan (RX781094), somministrato per via endovenosa in 7 immobilizzazioni e per via sottocutanea in una; mentre l'Atipamezolo (Antisedan, VETEM) è stato utilizzato in 23 immobilizzazioni, somministrato per via endovenosa in 20 immobilizzazioni e per via intramuscolare in 3.

Per ogni immobilizzazione sono stati rilevati i dosaggi iniziali e totali degli anestetici, i tempi di induzione, i tempi di anestesia e, nei casi di risveglio indotto, i tempi di recupero; inoltre l'anestesia è stata monitorata rilevando ogni 15 minuti: la temperatura rettale, la frequenza respiratoria e la frequenza cardiaca.

Per tempo di induzione si intende il tempo che intercorre tra l'iniezione della miscela anestetica a quando l'animale è a terra con poco o nessun movimento; per tempo di anestesia, nei casi di risveglio spontaneo, si intende il tempo che intercorre tra la fine dell'induzione e l'assunzione di un atteggiamento cosciente e reattivo alle stimolazioni esterne; mentre nei casi di risveglio indotto con antagonista il tempo di anestesia è il tempo che intercorre tra la fine dell'induzione e l'iniezione dell'antagonista. Il tempo di recupero invece è il tempo che intercorre tra l'iniezione dell'antagonista e l'assunzione da parte dell'animale di un atteggiamento cosciente e reattivo, oppure l'assunzione della posizione quadrupedale.

Come anestesi prolungate intendiamo tutte le immobilizzazioni che superano i 60 minuti.

Le dosi supplementari sono state somministrate solo quando è stata registrata una reazione dell'animale di tipo motorio, che indicava un inizio di risveglio spontaneo.

### 3. Risultati

#### 3.1. Dosaggi degli anestetici

Le 37 immobilizzazioni chimiche sono state effettuate su 8 soggetti diversi (2 femmine e 6 maschi) di età compresa tra 3 e i 18 anni, con pesi che vanno dai 16 ai 39 kg (media 24,6; D.S. 5,0). Il dosaggio volumetrico medio iniziale di miscela di Hellabrunn somministrata è stato di 0,49 ml, corrispondenti a 2,56 mg/kg di Xilazina (D.S. 1,1; range 0,94 – 4,68) e 2,13 mg/kg di Ketamina (D.S. 0,9; range 0,75 – 3,75).

In 8 casi comunque l'anestesia non era sufficientemente profonda per la manipolazione del soggetto, per cui è stata somministrata una dose ulteriore di anestetici ad un tempo medio di 11,5 minuti di distanza dalla prima (D.S. 6,3; range 4 – 22). Questa dose ulteriore è stata in 5 casi di Miscela di Hellabrunn, corrispondente mediamente a 1,73 mg/kg di Xilazina (D.S. 1,5; range 0,75 – 4,45) ed a 1,38 mg/kg di Ketamina (D.S. 1,2; range 0,6 – 3,54); mentre in tre casi è stata somministrata sola Ketamina a dosaggi medi di 0,91 mg/kg (range 0,5 – 1,29).

Pertanto i dosaggi totali medi di Xilazina e Ketamina somministrati per ottenere sia l'induzione dell'anestesia che la manipolazione dell'animale sono stati di 2,94 mg/kg (D.S. 1,5; range 0,94 – 8,86) e di 2,5 mg/kg (D.S. 1,2; range 0,94 – 7,08) rispettivamente.

Paragonando i dosaggi insufficienti con quelli sufficienti (vedi Tab. 1), la significatività statistica, non è stata raggiunta ( $0,05 < P < 0,1$ ). Probabilmente ciò è imputabile al ridotto numero di casi di dosi insufficienti.

#### 3.2. Tempi di induzione e di anestesia

I suddetti dosaggi iniziali hanno indotto l'anestesia in tutte le immobilizzazioni, con un tempo medio di induzione di 7,6 minuti ( $n=37$ ; D.S. 3,4; range 2 – 19). In 5 immobilizzazioni è stato atteso e osservato il risveglio spontaneo dell'animale, ottenendo un tempo medio di anestesia di 43,6 minuti (D.S. 10,8; range 29 – 59). Da questa media è stata esclusa una immobilizzazione in cui sono stati somministrati complessivamente due dosaggi supplementari, oltre a quello iniziale, per cui il tempo di anestesia (296 minuti) era eccessivamente prolungato.

#### 3.3. Anestesi prolungate

In cinque casi è stato necessario prolungare l'anestesia per oltre un'ora, somministrando una prima dose supplementare di Miscela di Hellabrunn (dose media Xilazina 2,10 mg/kg; dose media Ketamina 1,68 mg/kg) dopo un

tempo medio di 43,4 minuti (range 10 – 103), mentre in soli due casi è stato necessario somministrare una seconda dose supplementare. Una sintesi dei dati relativi a queste immobilizzazioni prolungate sono esposti nelle figure 1 e 2.

La seconda dose supplementare, proprio perché ha un tempo di emivita ridotto (Quintavalla e Signorini, 1992), è stata impiegata solo Ketamina ad un dosaggio di 1,88 e 1,65 mg/kg nei due casi e ad un tempo di 61 e 202 minuti dalla dose iniziale. Va specificato che in quattro di questi casi la finalità dell'immobilizzazione era il trasferimento dell'animale, mentre in un caso la finalità era l'asportazione chirurgica di un tumore. In quest'ultimo caso erano necessarie una analgesia e anestesia idonee e pertanto dopo solo dieci minuti è stata somministrata una seconda dose uguale alla prima, che portava il valore complessivo di Xilazina e Ketamina a 8,86 e a 7,08 mg/kg rispettivamente. Al fine di conoscere il volume di miscela di Hellabrunn da somministrare per ottenere il prolungamento dell'anestesia per una Lince di peso medio di 25 kg, abbiamo calcolato il dosaggio cumulativo somministrato agli animali per ora di anestesia.

Per ottenere l'anestesia chirurgica è stato necessario, nell'unico caso a nostra disposizione, somministrare 0,9 ml di miscela per ora per 25 kg. Ciò ha consentito l'effettuazione dell'intervento senza alcuna reazione dell'animale.

Mentre per gli altri quattro casi, in cui la finalità era il trasferimento, il dosaggio volumetrico per ora e per 25 kg di peso è stato mediamente di 0,41ml di Miscela di Hellabrunn (D.S. 0,2; range 0,21 – 0,62).

**3.4. Antagonisti e tempi di recupero**

Per ciò che riguarda gli antagonisti, l'Idazoxan è stato somministrato complessivamente in 8 casi ad un tempo medio di anestesia di 35,3 minuti (D.S. 10,6; range 23 – 52) e a dosaggi medi, indipendentemente dalla via di somministrazione, di 2,8 mg/animale (range 2 – 5; D.S. 1,4).

Più precisamente, in un caso la somministrazione è stata effettuata per via sottocutanea ottenendo un tempo di recupero di 10 minuti,

mentre nei restanti sette casi la somministrazione è stata effettuata per via endovenosa con un tempo medio di recupero di 5,4 minuti (range 1,56 – 13; D.S. 4,7).

L'Atipamezolo invece, utilizzato complessivamente in 23 immobilizzazioni, è stato impiegato, indipendentemente dalla via di somministrazione, a dosaggi medi di 4304 mcg/animale (range 2500- 5000; D.S. 914,85) e ad un tempo medio di anestesia di 47,7 minuti (range 19-243; D.S. 48,7). Il tempo medio di recupero ottenuto per la via sottocutanea o intramuscolare è stato di 7,8 minuti (n=4; range 3-11), mentre il tempo di recupero ottenuto con la somministrazione endovenosa è stato di 4,3 minuti (differenza significativa P < 0,05; n=19; D.S. 2,4; range 3 – 11).

**3.5. Temperatura rettale, frequenza respiratoria e cardiaca**

I dati riassuntivi dei parametri fisiologici sono riportati nella tab. 2. Paragonando i valori dei parametri del primo e secondo rilievo, misurati a distanza di circa 15 minuti, non è stata notata nessuna differenza statistica (f test, P > 0,1).

**4. Discussione**

Con i dosaggi di miscela di Hellabrunn, e quindi di Xilazina e Ketamina utilizzati, abbiamo ottenuto l'induzione dell'anestesia in tutte le immobilizzazioni effettuate senza alcun tipo di problema. Visto però che in un quinto dei casi circa (Tab. 1) la piena manipolabilità non è stata ottenuta, consigliamo di somministrare un dosaggio iniziale di miscela di Hellabrunn di 0,7 ml anziché di 0,5 ml per animali con peso di circa 25 kg. I tempi di induzione ottenuti, con l'impiego della Jaluronidasi, sono simili a quelli registrati per Orso bruno e Lupo, in cui è stata utilizzata la stessa associazione di farmaci (Gentile *et al.* 1996a; Gentile *et al.* 1996b), anche se in rapporti quantitativi diversi.

**Tab. 2** - Valori medi della temperatura rettale (TR), della frequenza respiratoria (FR) e della frequenza cardiaca (FC).

		n	media	Range	D. S.
1° rilievo	TR	34	38,6	36,3 – 41,3	1,1
	FR	34	34,4	20 – 48	7,7
	FC	34	97,1	71 – 129	13,2
2° rilievo	TR	13	38,6	37,1 – 39,9	0,9
	FR	13	31,1	24 – 44	6,0
	FC	13	96,1	77 – 138	16,0

**Tab. 1** - Sufficienza e insufficienza della 1° dose di Miscela di Hellabrunn (i valori in tabella sono riferiti alla Xilazina essendo il rapporto xil/ket costante)

	n	media mg/kg	Range	D.S.
1° dose insufficiente	7	1,996	0,94 – 4,43	1,16
1° dose sufficiente	30	2,703	1,17 – 4,68	1,04

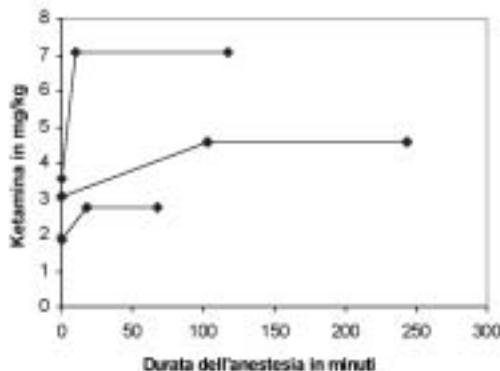


Fig. 1 – Dosi cumulative di Miscela di Hellabrunn in funzione del tempo di anestesia. La curva massima rappresenta il caso di anestesia chirurgica. Il secondo punto corrisponde al dosaggio supplementare. L'ultimo punto corrisponde alla fine dell'anestesia. Dose di Miscela di Hellabrunn misurata con solo Ketamina

L'animale, dopo qualche minuto dall'iniezione a distanza, inizia a perdere la coordinazione motoria e assume la posizione sternale, rimanendo in genere in quella posizione o assumendo quella laterale. Non sono mai stati osservati gli effetti collaterali descritti da Hatlapa & Wiesner (1988) per la sola Ketamina, quali vocalizzazioni, rigidità muscolare e scuotimenti della testa, mentre è stato osservato un buon rilasciamento muscolare ed una buona analgesia, che hanno consentito la manipolazione del soggetto, il prelievo di materiale biologico e, in un soggetto, l'asportazione di una tumefazione di probabile origine neoplastica, in tutta sicurezza.

Il fatto che non sia stato possibile dimostrare nessuna variazione dei parametri fisiologici (temperatura rettale, frequenze respiratoria e cardiaca) durante l'anestesia è probabilmente imputabile allo scarso stress subito, infatti i valori rilevati sono verosimilmente prossimi a quelli normali per la specie.

Gli  $\alpha^2$  antagonisti utilizzati, l'Idazoxan e l'Atipamezolo, hanno consentito un accettabile recupero psico-motorio del soggetto, nel senso del recupero della reattività alle stimolazioni e della capacità di acquisizione della stazione quadrupedale, ma persisteva una evidente incoordinazione dei movimenti per lungo tempo, circa tre o quattro ore. Questo, pur considerando il campione ridotto di casi, molto probabilmente è imputabile ad un insufficiente dosaggio degli antagonisti.

L'incoordinazione motoria non rappresenta alcun problema per soggetti mantenuti in catti-

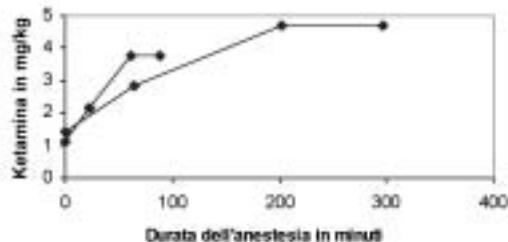


Fig. 2 – Dosi cumulative di Miscela di Hellabrunn e Ketamina in funzione del tempo di anestesia. Il terzo punto corrisponde alla somministrazione di sola Ketamina.

vità, ma per animali catturati in natura per scopo di studio, potrebbe rappresentare un pericolo per la loro incolumità, in questi casi è consigliabile osservare l'animale fino ad un pieno recupero motorio. Sarebbe utile sperimentare in futuro gli effetti di un dosaggio maggiorato degli antagonisti.

## 5. Ringraziamenti

Si ringrazia la Direzione de Parco Nazionale d'Abruzzo e la Responsabile del Servizio scientifico Ambientale. Inoltre si ringraziano i Sig.ri Germano Palozzi, Massimo Antonucci e Quirino Pistilli per l'aiuto prestato durante tutte le immobilizzazioni delle linci e la Sig.na Ambra Catalanotti per la traduzione del Riassunto.

## Bibliografia

- HATLAPA H. H. M. & WIESNER H (1988) - *Die praxis der wildtierimmobilisation*. Verlag Paul Parey, Hamburg, pp 96.
- QUINTAVALLA F. & SIGNORINI G. (1992) - *Il medicinale veterinario, terapia e legislazione*. Ed. SBM Noceto (PR).
- GENTILE L., ROTH H.U., BOSCAGLI G. & MARI F. (1996a) - Immobilizzazione chimica di Orsi bruni (*Ursus arctos mariscanus* e *Ursus arctos*) nel Parco Nazionale d'Abruzzo. In Spagnesi M. V. Guberti e M.A. De Marco (Eds), 1996 - Atti del Convegno Nazionale di Ecopatologia della Fauna Selvatica. *Suppl. Ric. Biol. Selvaggina*, XXIV: 399-414.
- GENTILE L., MARI F., BOSCAGLI G. & LOCATI M. (1996b) - L'Idazoxan come antagonista della narcosi indotta con miscela di Hellabrunn nel Lupo (*Canis lupus italicus*). In Spagnesi M. V. Guberti e M.A. De Marco (Eds), 1996 - Atti del Convegno Nazionale di Ecopatologia della Fauna Selvatica. *Suppl. Ric. Biol. Selvaggina*, XXIV: 415-422.

# ELMINTOFAUNA DEL CERVO NEL PARCO NAZIONALE DELLO STELVIO

Manfredi M. T.\* , Piccolo G.\* , Fraquelli C.\*\* , Perco F.\*\*\*

\* Istituto di Patologia Generale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi via Celoria 10 - 20133 Milano

\*\* Istituto Zooprofilattico delle Venezie, sede diagnostica di Trento, via Lavisotto 129 - 38100 Trento.

\*\*\* Osservatorio Faunistico, via L. Sturzo 8 - 33170 Pordenone

**Riassunto** - È stata studiata l'elmintofauna di 115 Cervi (*Cervus elaphus*) abbattuti nel Parco Nazionale dello Stelvio tra novembre e dicembre 1997. Sono risultati positivi agli esami parassitologici il 96% dei soggetti. Sono stati riscontrati nematodi gastrointestinali nel 92% degli abomasi, nel 19% degli intestini tenue e nel 25% degli intestini cieco-colon. L'elmintofauna abomasale e intestinale rispecchia quella tipica dei Cervidi per la presenza delle seguenti specie elmintiche: *Spiculoptera spiculoptera*, *Ostertagia leptospicularis*, *Ostertagia kolchida*, *Rinadia mathevossiani* e *Nematodirus europaeus*. Per altro sono state reperite alcune specie di comune riscontro nei Ruminanti domestici: *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus axei*, *Capillaria bovis*, *Cooperia pectinata*, *Oesophagostomum radiatum*, *Oesophagostomum venulosum*, *Trichuris ovis*, *Chabertia ovina* e *Moniezia benedeni*. *S. spiculoptera* risulta essere la specie dominante (P= 66.6%, A=55.49) nell'abomaso, *C. bovis* (A=3.84) nel tenue e *O. radiatum* (A=17.4%) nel cieco-colon. Di particolare rilievo è inoltre l'infestazione da *Dicrocoelium dendriticum* (P=30%) distoma epatico tipico dell'Ovino ma osservato in precedenza con valori di abbondanza elevati anche in Caprioli rinvenuti morti nel territorio del Parco. L'apparato broncopolmonare è risultato infestato da *Dictyocaulus eckerti* (P= 61.3%). Gli yearlings sono risultati i soggetti con le maggiori cariche gastrointestinali (A=446.82), il valore di richness più elevato (R=2.93), il minor grado di aggregazione (k= 2.32) e la minore quantità di grasso perirenale (KFI= 32.45). In tutti i soggetti è stata osservata una correlazione negativa tra la carica parassitaria e il KFI.

**Abstract - Helminths of deer *Cervus elaphus* in the Stelvio National Park.** Helminths from 115 Red deer (*Cervus elaphus*) culled in the Stelvio National Park from November throughout December 1997 were collected, of which 96% were positives for parasites. Gastrointestinal helminths were found in 92% of abomasum, in 19% of small intestines and in 25% of large intestines. The following helminths, all of them typical of cervids, were found in the abomasum and the small intestine: *Spiculoptera spiculoptera*, *Ostertagia leptospicularis*, *Ostertagia kolchida*, *Rinadia mathevossiani* and *Nematodirus europaeus*. Few species of *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus axei*, *Capillaria bovis*, *Cooperia pectinata*, *Oesophagostomum radiatum*, *Oesophagostomum venulosum*, *Trichuris ovis*, *Chabertia ovina* e *Moniezia benedeni* were also recorded. These species are usually found in domestic ruminants as well. *S. spiculoptera* is the dominant species (P= 66.6%, A=55.49) in the abomasum, *C. bovis* (A=3.84) in the small intestine and *O. radiatum* (A=17.4%) in the large intestine. *Dicrocoelium dendriticum* has been found in the bile ducts and gall bladder mainly in adult hosts (P=30%). Previously, this species was observed in Roe deer found dead in the Park. *Dictyocaulus eckerti* (P= 61.3%) was recovered in the lungs. For gastrointestinal helminths the yearlings showed the highest worm burden (A=446.82), the highest richness value (R=2.93), the lowest aggregation (k= 2.32) and the lowest quantity of kidney fat (KFI= 32.45). A negative correlation between the worm burden and the KFI was observed.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 245 - 249

## 1. Introduzione

Nel 1997 è stato avviato un piano di controllo demografico della popolazione di *Cervus elaphus* nel Parco Nazionale dello Stelvio e i soggetti abbattuti sono stati sottoposti a un completo monitoraggio sanitario. Nell'ambito di tale monitoraggio è stato previsto anche lo studio delle infestazioni elmintiche per l'acquisizione di dati di base che sono piuttosto carenti per questa specie animale. Studi precedenti sono stati effettuati su un numero limitato di soggetti e solo in parte hanno interessato animali a vita libera (Genchi *et al.*, 1990; Zaffaroni *et al.*, 1998) in quanto il lavoro di Romano *et al.* (1980) si riferisce a soggetti provenienti dal Parco Regionale "La Mandria" che è delimitato da una recinzione e nel cui territo-

rio i cervi sono in stretta coabitazione con ruminanti domestici (Bovini). Per altro, è noto il ruolo dei parassiti sulla dinamica delle popolazioni di ungulati selvatici (Genchi *et al.* 1993). Scopo dell'indagine è stato anche quello di definire lo stato del rapporto ospite-parassita (aggregazione) e di effettuare una valutazione dei dati quantitativi in relazione alle condizioni fisiche della popolazione ospite al fine di estrarre informazioni in grado di implementare i modelli gestionali riguardanti le popolazioni di questo ungulato selvatico.

## 2. Materiali e metodi

L'indagine è stata condotta su un totale di 115 soggetti abbattuti nel Parco Nazionale dello Stelvio in novembre e dicembre 1997 e prove-

nienti dalle località di Silandro, Martello, Lasa, Ultimo, Laces, Malles e Glorenza. Il campione era rappresentato da 52 piccoli, 46 femmine (10 sottili, 21 adulti, 15 senior) e 11 maschi (9 fusoni, 2 subadulti). Di 6 soggetti non è stato determinato il sesso. Complessivamente sono stati esaminati 104 abomasi, 104 intestini tenui, 102 intestini ciechi-colon, 85 fegati e 97 polmoni poichè non tutti gli organi sono giunti integri. Gli elminti gastrointestinali sono stati raccolti su una aliquota del 10% del contenuto utilizzando le usuali tecniche (MAFF, 1986). Gli elminti dell'albero tracheo-bronchiale ed epatici sono stati ricercati sia sugli organi interi sia su frammenti. L'identificazione dei Nematodi è stata effettuata al microscopio ottico mediante tipizzazione dei maschi adulti secondo le chiavi morfologiche di Drozd (1965), Durette-Desset (1979, 1981, 1983) e Skrjabin *et al.* (1961, 1971). Per la nomenclatura si è fatto riferimento a quanto proposto da Durette-Desset (1989). Inoltre è stato valutato lo stato di nutrizione dei soggetti in base alla quantità del deposito di grasso perirenale calcolando il "Kidney Fat Index" (KFI = peso medio grasso perirenale/peso renale medio x 100) (Riney, 1955).

Relativamente al tratto gastrointestinale sono state calcolate le cariche parassitarie totali, i valori di prevalenza (P= percentuale di ospiti infestati) ed abbondanza (A= numero medio di parassiti per ospite) (Margolis *et al.*, 1982) delle diverse specie elmintiche osservate. Sono stati inoltre calcolati il parametro di aggregazione  $k$  nell'ipotesi distributiva binomiale negativa e il valore di richness (numero medio di specie per ospite). Le differenze tra le cariche gastrointestinali totali in relazione all'età e al sesso sono state testate mediante l'analisi della varianza multivariata sui valori normalizzati ( $\log x + 1$ ). Il confronto tra l'andamento del KFI e le cariche totali è stato effettuato con il test non parametrico di correlazione per ranghi di Spearman.

### 3. Risultati

Nella tab. 1 sono indicate le specie elmintiche riscontrate nei singoli tratti dell'apparato gastro-intestinale. Sono risultati positivi all'esame parassitologico il 92% degli abomasi, il 19% degli intestini tenui e il 25% degli intestini cieco-colon. Nell'abomaso la specie elmintica più diffusa è risultata *S. spiculopectera* in quanto ha i valori di abbondanza e prevalenza più elevati (P=66.6%, A=55.49). Prevalenze modeste sono state osservate per *O. leptospicularis*, *O. kolchida* e *R. mathevossiani* che però

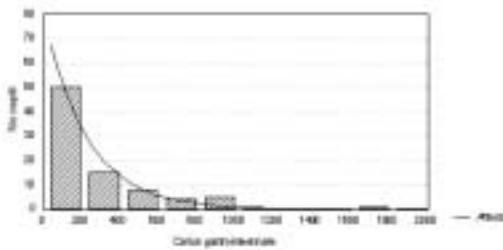
presentano valori di abbondanza nettamente inferiori (A= 8.33; A= 1.86; A= 3.33 rispettivamente). *H. contortus* e *T. axei* sono risultati distribuiti nella popolazione ospite in maniera sporadica (P=0.9% e A=0.09; P=1.9% e A=0.49 rispettivamente).

Nell'ambito dell'intestino sono stati osservati modesti valori di prevalenza e di abbondanza per tutte le specie elmintiche. La specie più diffusa è *O. radiatum* nel cieco-colon (P= 17.4%). Nella tab. 2 è illustrata la distribuzione elmintica in relazione alle classi di età. La classe degli yearlings identifica le categorie dei maschi fusoni e delle femmine sottili mentre la classe degli adulti quelle dei maschi subadulti, delle femmine senior e adulte. Nei piccoli e negli yearlings oltre il 90% degli abomasi è risultato parassitato mentre per quanto riguarda l'intestino le percentuali di positività variano da un 4.3% per l'intestino tenue nei piccoli ad oltre il 30% dell'intestino cieco-colon negli adulti. In questi ultimi non sono stati riscontrati parassiti a carico del tenue. Le specie elmintiche reperite sono sostanzialmente le stesse nei 3 gruppi. Nell'abomaso *S. spiculopectera* è il Nematode più rappresentato in tutte le classi di età seguito da *O. leptospicularis*. Entrambi questi elminti hanno valori di abbondanza e prevalenza più elevati negli yearlings (Tab. 2).

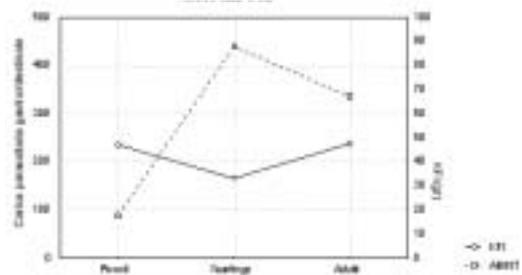
Relativamente all'intestino tenue, negli yearlings sono stati osservati valori di prevalenza maggiori che nel gruppo dei piccoli. In partico-

**Tab. 1** - Elminti gastrointestinali e relativi parametri epidemiologici

	Abbondanza ± DS	Prevalenza
Abomaso (n=102)		
<i>Ostertagia leptospicularis</i>	8.33 ± 18,08	40,2%
<i>Spiculopectera spiculopectera</i>	55.49 ± 97.98	66,6%
<i>Ostertagia kolchida</i>	1.86 ± 4.82	15,6%
<i>Rinadia mathevossiani</i>	3.33 ± 9.88	17,6%
<i>Haemonchus contortus</i>	0.09 ± 0.99	0,9%
<i>Trichostrongylus axei</i>	0.49 ± 4.07	1,9%
Intestino tenue (n=104)		
<i>Nematodirus europaeus</i>	0.96 ± 9.80	0,9%
<i>Cooperia pectinata</i>	1.92 ± 13.80	1,9%
<i>Capillaria bovis</i>	3.84 ± 19.32	3,3%
<i>Moniezia benedeni</i>	0.04 ± 0.21	4,8%
Intestino cieco-colon (n=103)		
<i>Chabertia ovina</i>	0.19 ± 1.38	1,6%
<i>Oesophagostomum radiatum</i>	2.70 ± 7.36	17,4%
<i>Oesophagostomum venulosum</i>	0.40 ± 1.94	4,8%
<i>Trichuris ovis</i>	0.42 ± 2.38	5,8%



**Fig. 1** – Distribuzione delle cariche gastrointestinali  
Kolmogorov-Smirnov  $d=0.0481535$   $P=n.s$   
Chi-Quadro: 4.8812,  $gdl=2$   $P=0.087241$



**Fig. 2** – Andamento della carica gastrointestinale e del KFI nelle tre classi di età.

lare, negli yearlings non è stato riscontrato *N. europaeus* mentre *T. ovis* è stato osservato solamente nei piccoli.

L'aggregazione ospite-parassita è maggiore negli adulti e nei piccoli in cui il parametro  $k$  assume valori inferiori (rispettivamente  $K=0.63$  e  $K=0.97$  per i parassiti abomasali). Negli yearlings sono stati riscontrati le cariche maggiori, il valore di richness più elevato, il minor grado di aggregazione e la minore quantità di grasso perirenale (Tab. 3). A livello broncopolmonare è stata isolata una sola specie elmintica, *D. eckerti*, con prevalenza maggiori nei piccoli ( $P=61.3\%$ ). Il fegato è risultato infestato da *Dicrocoelium dendriticum* in particolare negli adulti ( $P=30\%$ ) in cui sono state osservate cariche elevate (max 901 trematodi). Sono stati

infine raccolti sulla superficie esterna degli organi gastrointestinali alcuni esemplari di *Setaria cervi* e sul parenchima epatico *Cysticercus tenuicollis*.

La distribuzione delle cariche gastrointestinali è riportata nella fig. 1. Le cariche gastrointestinali totali erano significativamente diverse nei 3 gruppi di soggetti (Manova  $P<0.001$ ). In particolare, le cariche degli yearlings e degli adulti sono risultate per entrambi questi gruppi significativamente differenti da quelle osservate nei piccoli (Manova  $P < 0.001$ ).

Per quanto attiene le variazioni del KFI in relazione alle cariche elmintiche, tale indice è risultato correlato negativamente all'infestazione parassitaria in tutti i soggetti (Fig. 2) e in modo particolare nei piccoli (correlazione per

**Tab. 2** - Parametri epidemiologici e di aggregazione delle specie elmintiche gastrointestinali in relazione alla struttura della popolazione ospite

	ADULTI			YEARLINGS			PICCOLI		
	A ± DS	P	K	A ± DS	P	K	A ± DS	P	K
Abomaso	308.2 ± 386.7	88.2%	0.63	380.5 ± 295.5	94.7%	1.66	82.7 ± 84.5	93.02%	0.97
<i>Ostertagia leptospicularis</i>	5.8 ± 10.7	35.3%	0.31	16.8 ± 33.3	47.4%	0.25	7.2 ± 13.1	41.86%	0.31
<i>Spiculoptera spiculoptera</i>	76.7 ± 125.3	70.6%	0.37	117.4 ± 120.1	94.7%	0.96	16.1 ± 26.1	48.8%	0.38
<i>Ostertagia kolchida</i>	0.6 ± 2.3	5.8 %	0.06	2.6 ± 7.3	15.7%	0.13	2.8 ± 5.1	25.58%	0.34
<i>Rinadia mathevossiani</i>	6.2 ± 14.7	23.5%	0.17	4,7 ± 9.6	31.5%	0.25	0.9 ± 2.9	9.3%	0.10
<i>Haemonchus contortus</i>	0.3 ± 1.7	2.9%	0.11	0 ± 0	0%	-	0 ± 0	0%	-
<i>Trichostrongylus axei</i>	0.0 ± 0.0	0%	-	0.5 ± 2.3	5.3%	0.05	0.93 ± 6.1	2.3%	0.02
Intestino tenue	0 ± 0	0%	-	22.3 ± 54.8	22.2	0.16	6.5 ± 32.7	4.3%	0.04
<i>Nematodirus europaeus</i>	0 ± 0	0%	-	0 ± 0	0%	-	2.2 ± 14.7	2.1%	0.02
<i>Cooperia pectinata</i>	0 ± 0	0%	-	11.1 ± 32.3	11.1%	0.11	0 ± 0	0%	-
<i>Capillaria bovis</i>	0 ± 0	0%	-	11.1 ± 32.3	11.1%	0.11	4.3 ± 20.6	4.3%	0.04
<i>Moniezia benedeni</i>	0 ± 0	0%	-	0.05 ± 0.23	5.5%	0.86	0.08 ± 0.3	8.7%	-
Intestino cieco-colon	5.9 ± 11.2	32.3 %	0.29	6.4±10.8	33.3%	0.37	2.1±5.6	20%	0.16
<i>Chabertia ovina</i>	0 ± 0	0%	-	0.6 ± 2.4	5.8%	0.06	0.2 ± 1.5	2.2%	0.02
<i>Oesophagostomum radiatum</i>	5.6 ± 10.4	32.3%	0.30	3.5 ± 8.3	21.1%	0.18	0.5 ± 2.2	6.6%	0.07
<i>Oesophagostomum venulosum</i>	0.3 ± 1.7	2.9%	0.11	0.6 ± 2.3	11.1%	0.07	0.4 ± 2.1	4.4%	0.04
<i>Trichuris ovis</i>	0 ± 0	0%	-	0 ± 0	0%	-	0.9 ± 3.5	13.3%	0.07

**Tab. 3** - Parametri epidemiologici e di aggregazione, valore di richness, indice delle condizioni fisiche (KFI), relativi alla carica gastrointestinale complessiva nelle tre classi di età.

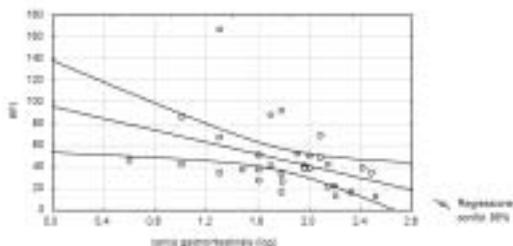
	ADULTI(N=31)	YEARLINGS(N=17)	PICCOLI(N=38)
Carica totale (A ± DS)	307.8 ± 377.1	446.82 ± 293.8	81.78 ± 81.58
K	0.66	2.32	1.01
Richness	2.12	2.93	2.10
KFI	47.8 ± 26.17	32.45 ± 7.43	46.03 ± 13.92
Prevalenza	87.09%	94.1%	92.1%

ranghi di Spaerman,  $R=-0.407$ ,  $P<0.01$ ) (Fig. 3) e nei maschi (Fig. 4).

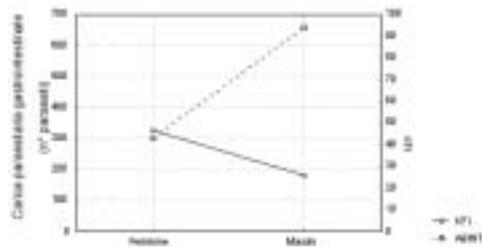
### 3. Discussione

L'elmintofauna abomasale ed intestinale nei cervi studiati rispecchia quella caratteristica dei cervidi per quanto riguarda cinque specie elmintiche: *Spiculoptera spiculoptera*, *Ostertagia leptospicularis*, *Ostertagia kolchida*, *Rinadia mathevossiani* e *Nematodirus europaeus* le quali sono state osservate abitualmente nel capriolo e solo occasionalmente in altre specie di ruminanti selvatici. *N. europaeus* è l'unica specie intestinale che possiamo ricondurre ai cervidi; finora è stato segnalato in Francia ed in Italia nel capriolo (Rossi *et al.* 1997). Le restanti specie elmintiche *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus axei*, *Capillaria bovis*, *Cooperia pectinata*, *Oesophagostomum radiatum*, *Trichuris ovis*, *Oesophagostomum venulosum* e *Chabertia ovina* sono di comune riscontro nei ruminanti domestici. *D. eckerti* è stato segnalato sia nel cervo che nel capriolo (Hugonnet *et al.*, 1980; Manfredi e Lanfranchi, 1990; Genchi *et al.*, 1990) mentre *D. dendriticum* di norma osservato nei ruminanti domestici è stato segnalato nel muflone e nel capriolo e nell'ambito di precedenti indagini sull'elmintofauna degli ungulati del Parco Nazionale dello Stelvio è stato riscontrato in caprioli anche con cariche elevate

(Manfredi, dati non pubblicati). Nel complesso il cervo sembra sopportare meglio l'aggressione parassitaria rispetto ad altri ungulati selvatici e soprattutto rispetto al capriolo (Genchi *et al.*, 1990; Zaffaroni *et al.*, 1998). In generale nonostante le prevalenze elevate, i valori di abbondanza sono nettamente contenuti se confrontati con i dati relativi a soggetti provenienti da altri contesti (Bidovec, 1985; Suarez *et al.* 1997). Lo stesso numero di specie per ospite (richness) è significativamente minore rispetto ad altri ungulati (Genchi *et al.*, 1990; Zaffaroni *et al.*, 1998). Per altro, per quanto attiene lo stato del rapporto parassita-ospite i valori del parametro di aggregazione  $k$  non si discostano in maniera significativa da quelli osservati nel capriolo o nel camoscio (*cfr.* Zaffaroni *et al.*, 1998). Modesti valori di aggregazione ( $k=2.32$ ) sono stati riscontrati nella classe di età intermedia (yearlings) in cui sono state rilevate anche le cariche più elevate e il maggior valore di richness. Per altro nel gruppo dei piccoli che all'aumentare della carica parassitaria hanno presentato una riduzione dei depositi di grasso perirenale (KFI), è stato osservato il valore di prevalenza maggiore per quanto attiene gli elminti broncopolmonari e all'esame copromicroscopico una elevata escrezione di forme preimaginali di strongili gastrointestinali e di oocisti di *Eimeria cervi*.



**Fig. 3** - Correlazione tra KFI e carica parassitaria gastrointestinale nel gruppo dei "piccoli".  $r=-0.407$   $P<0,01$



**Fig. 4** - Andamento della carica parassitaria gastrointestinale ed andamento del KFI in rapporto al sesso.

**Bibliografia**

- BIDOVEC A. (1985) - A study of endohelminths from gastrointestinal tract of wild ruminants in Slovenia. *Zb. Biotehn. Fak. Univ. E. Kardelja, Vet.* 22: 175-185
- DROZDZ J. (1965) - Studies on helminths and helminthiases in Cervidae. I. Revision of the subfamily Ostertaginae (Sarwar, 1956). *Acta Parasitologica polonica*, 13: 445-481
- DURETTE-DESSET M.C. (1979) - Le Nematodirinae (Nematoda) chez les ruminants et chez les lagomorphes. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 54: 313-329
- DURETTE-DESSET M.C. (1981) - Nouvel essai de classification des nematodes Trichostrongyloidea. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 3: 297-312
- DURETTE-DESSET M.C. (1983) - Key to genera of the Superfamily Trichostrongyloidea. N°10. C.A.B.
- DURETTE-DESSET M.C. (1989) - Nomenclature proposée pour les espèces décrites dans la sous-famille des Ostertaginae (Lopez Neyra, 1947). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 64: 356-373.
- GENCHI C., MANFREDI M.T., RIZZOLI A.P., ZECCHINI O., NICOLINI G. & FLAIM S. (1993) - L'epidemiologia nello studio delle malattie diffuse dei ruminanti selvatici e implicazioni gestionali. *Atti della Società Italiana di Buiatria*, 25: 135-145
- GENCHI C., RIZZOLI A.P. & MANFREDI M.T. (1990) - Definizione della popolazione elmintica degli ungulati selvatici del parco Naturale Adamello-Brenta. Studi Trentini di Scienze Naturali. *Acta Biologica*, 67: 135-144.
- HUGONNET L., GEVREY J. & EUZEY J. (1980) - Présence, en France, chez le chevreuil, *Capreolus capreolus* (L) de *Dictyocaulus eckerti* Skrjabin 1931. *Bull. Acad. Vét. de France* 53: 99-105
- MANFREDI M.T. & LANFRANCHI P. (1990) - Elminti broncopolmonari in ruminanti domestici e selvatici. *Parassitologia*, 175-176
- MARGOLIS L., ESH W.G., HOLMES C.J., KURIS M.A. & SCHAD A.G. (1982) - The use of ecological terms in parasitology (report of an ad hoc committee of the American Society of Parasitologists). *J. Parasitol.*, 68: 131-133.
- MINISTRY OF AGRICULTURE, FISHERIES AND FOOD (1986) - *Manual of veterinary parasitological laboratory techniques*. HMSO London
- RINEY T. (1955) - Evaluating condition of free-ranging red deer with special reference to New Zealand. *N.Z.J.Sci.Tech.*, 36: 428-463
- ROMANO R., CANCRINI G., LANFRANCHI P. & GALLO M.G. (1980) - Indagine sulla diffusione degli elminti parassiti dell'apparato digerente e dell'apparato respiratorio nei cervi (*Cervus elaphus*) del Parco Regionale "La Mandria" (Piemonte). *Parassitologia*, 22: 135-139
- ROSSI L., ECKEL B. & FERROGLIO E. (1997) - A survey of the gastro-intestinal nematodes of roe deer (*Capreolus capreolus*) in a mountain habitat. *Parassitologia*, 39: 303-312
- SKRJABIN K.I., SHIKHOBALOVA N.P. & ORLOV I.V. (1961) - Key to parasitic Nematodes. Vol. III. Israel Program for Scientific Translation, Jerusalem pp 758
- SKRJABIN K.I., SHIKHOBALOVA N.P. & SHUL'TS R.S. (1971) - *Dictyocaulidae, Heligmosomatidae and Ollulanidae of Animals*. Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem pp 316
- SUAREZ V.H.M., LORENZO G.C., BUSETTI M.R. & FORT M.C. (1997) - Internal parasites found in red deer (*Cervus elaphus* L.) in the province of La Pampa (Argentina). *Revista de Medicina Veterinaria*, 78 (2): 77-80.
- ZAFFARONI E., BROGLIA A., SALA M. & CITTERIO C. (1998) - Yearly variations in abomasal parasitism in three alpine ruminant species from 1993 to 1996. *Parassitologia*, 40 (suppl. 1):181.



# INDAGINE SUI COCCIDI PRESENTI NEL CAMOSCIO D'ABRUZZO

Martella D.\*, Poglayen G.\*\* , Gentile L.\*\*\*, Mari F.\*\*\*, Martini M.°

\*Libero Professionista - Via S.Camillo De Lellis 107, 66100 Chieti;

\*\*Istituto Malattie Infettive, Profilassi e Polizia Veterinaria, Università di Messina – Via S. Cecilia 30, 98123 Messina;

\*\*\* Centro Studi Ecologici Appenninici Parco Nazionale d'Abruzzo, Pescasseroli (AQ);

° Istituto di Patologia e Igiene Veterinaria, Università di Padova, - Agripolis, 35020 Legnaro (P D)

**Riassunto** - Nel Camoscio d'Abruzzo (*Rupicapra pyrenaica ornata*) gli autori hanno identificato 2 specie di coccidi del genere *Eimeria*: *E. rupicaprae* (Galli - Valerio 1924) ed *E. riedmuelleri* (Yakimoff e Matschoulsky 1940). Contestualmente sono stati osservati anche strongili gastro-intestinali, bronco-polmonari, tricocefali e cestodi. Su 106 campioni esaminati, 97 sono risultati positivi per coccidi (91,5%), 51 per strongili gastro-intestinali (48%), 44 per strongili bronco-polmonari (41,5%) e 16 (15%) per tricocefali e cestodi. La prevalenza di *E. rupicaprae* è risultata dell' 81% mentre quella di *E. riedmuelleri* dell'85%. Le specie di coccidi reperite sono state studiate comparativamente alle descrizioni riportate in letteratura. Le capre domestiche che usufruivano degli stessi pascoli sono risultate positive per *E. ninakoliakimovae* ed *E. arloingi* coccidi caratteristici della specie. Viene evidenziato il ruolo negativo del confinamento nei confronti della distribuzione dei coccidi e la loro differente prevalenza in due aree protette, il Parco nazionale d'Abruzzo ed il Parco Nazionale della Majella.

**Abstract - Eimeria spp. from Abruzzo Chamois in Italy: Synopsis.** Two species of *Eimeria* spp. were identified in Abruzzo Chamois (*Rupicapra, rupicapra ornata*): *E. rupicaprae* (Galli - Valerio, 1924) and *E. riedmuelleri* (Yakimoff e Matschoulsky, 1940). Digestive and lung strongyles, wipworms and tapeworms were also observed. Out of 106 observed specimens 97 resulted positive for coccidia (91,5 %), 51 for gastro-intestinal Strongyles (48 %), and 16 for Wipworms and Tapeworms (15 %). The prevalences resulted of 81 % and 85 % for *E. rupicaprae* and for *E. riedmuelleri* respectively. The two species were comparatively studied with the previous descriptions. Domestic goats, grazing on the same pastures, resulted positive for specific *Eimeria* species: *E. ninakoliakimovae* and *E. arloingi*. The negative role of fencing in coccidia distribution and the prevalence differences between Abruzzo National Park and Majella National Park were focused.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 251- 256

## 1. Introduzione

Il Camoscio appenninico o d'Abruzzo (*Rupicapra pyrenaica ornata*, Neumann 1899), è particolarmente protetto dalla legislazione venatoria italiana (L.Q. 11/2/1992 n° 157), è menzionato anche nell'Appendice 1 della Convenzione di Washington (C.I.T.E.S.) del 1973, che regola il commercio delle specie minacciate di estinzione e viene annoverato inoltre nella "Lista rossa dei taxa animali in pericolo di estinzione" della International Union for the Conservation of Nature (I.U.C.N.).

E' solo da una decina d'anni che il Camoscio d'Abruzzo è stato definitivamente separato su base rigorosamente scientifica da quello alpino (*Rupicapra rupicapra rupicapra*) di cui era considerato solo una sottospecie, acquistando così a pieno diritto una sua individualità di specie con un alto valore biologico (Masini, 1985; Nascetti *et al.*, 1985; Masini & Lovari, 1988). Attualmente la consistenza della popolazione viene stimata intorno ai 670-700 capi (dati non pubblicati), distribuiti esclusivamente nei tre Parchi Nazionali Abruzzesi e nelle relative Aree Faunistiche. Anche se la consistenza

numerica si è allontanata dai livelli critici di estinzione raggiunti dopo i due conflitti mondiali e nei decenni immediatamente successivi, questo non deve fare abbassare il livello d'attenzione nella sorveglianza di questo ruminante selvatico. Ed è proprio in questo contesto che si vuole inserire il presente lavoro, con un contributo alla conoscenza dei parassiti, attualmente assai scarsa, di questo rupicaprino, partendo dallo studio dei coccidi (*Eimeria* spp.).

## 2. Metodi

Nel corso del 1996 sono stati raccolti 106 campioni di feci di Camoscio appenninico, provenienti dal Parco Nazionale della Majella (P.N.M.) e dal Parco Nazionale d'Abruzzo (P.N.A.).

I campioni sono stati raccolti sul terreno, 46 dai recinti delle aree faunistiche e 53 da animali in libertà e direttamente dal retto degli animali (3 da soggetti rinvenuti morti e 4 da soggetti catturati per essere marcati e radiocollari). Nello stesso periodo si è ritenuto opportuno analizzare anche campioni di feci di capra domestica, per ricercarvi i coccidi eventualmente presenti. Motivo di questo ampliamento dell'indagine è

da ricercare nel fatto che la capra (*Capra hircus*) è il ruminante domestico filogeneticamente più vicino al camoscio ed in secondo luogo per la condivisione dei medesimi pascoli d'altura nei mesi estivi. In questo caso i campioni raccolti sono stati 12, prelevati direttamente dal retto di soggetti appartenenti a 2 allevamenti. Tutti i campioni sono stati esaminati qualitativamente mediante concentrazione e successiva levitazione in soluzione a p. s. 1300. Questo tipo di esame mette in evidenza anche altre forme di parassiti che, per completezza abbiamo annotato. Le larve dei metastrongili così reperite sono state identificate in base ai profili delle estremità caudali (Euzeby, 1981). L'esame quantitativo dei campioni positivi per coccidi ha fatto riferimento alla tecnica di Mc Master, con una soglia di positività di 20 oocisti per grammo di feci. I campioni riccamente positivi per oocisti sono stati posti in Bicromato di Potassio ( $K_2Cr_2O_7$ ) al 2,5% a temperatura ambiente, onde ottenere la sporulazione delle oocisti stesse. Giornalmente si provvedeva all'ossigenazione e venivano effettuati prelievi di materiale per controllare lo stato di maturazione delle oocisti. Per l'identificazione delle specie si è proceduto allo studio delle caratteristiche morfologiche delle oocisti sporulate. La misurazione delle oocisti è stata effettuata, previa sporulazione, su almeno un centinaio di elementi di ciascuna specie osservata. Tutte le misure riportate nel testo sono espresse in micrometri  $\mu m$ . A tale scopo si è utilizzato un oculare misuratore micrometrico (10X) che, accoppiato ad un obiettivo ad immersione (100X), permetteva di valutare differenze dell'ordine di 1,38. La morfologia delle varie forme immature e mature è stata studiata con osservazioni dirette. Per la valutazione della bontà della classificazione in 4 specie diverse di coccidi (2 nel camoscio e 2 nella capra), identificate in base alla loro morfologia, è stata impiegata l'analisi discriminante. Tale analisi permette, tramite la costruzione di una funzione lineare discriminante, di classificare ciascuna osservazione all'interno di un gruppo. Non sono stati presi in considerazione in questo tipo di valutazione, i dati relativi al numero degli strati ed allo spessore della pare-

**Tab. 1** - Risultati complessivi degli esami coprologici (n = 106)

Parassiti	N° Campioni Positivi	%
Coccidi ( <i>Eimeria</i> spp.)	97	91,5
Strongili gastro-intestinali	51	48
Strongili bronco-polmonari	44	41,5
Altri	16	15

te, in quanto nel nostro caso, non indicativi di differenze di specie.

Il confronto fra le prevalenze riscontrate in animali dei due parchi e fra quelli recintati e quelli in libertà è stato valutato attraverso il test del  $\chi^2$ . Le differenze fra il numero medio di oocisti emesse dagli animali dei 2 Parchi, in recinto o in libertà, sono state valutate tramite l'analisi della varianza. Questa è stata condotta tenendo conto dei due fattori, origine e stato dell'animale (libero / recintato) e della loro interazione.

### 3. Risultati

In tabella 1 vengono riportati il numero dei campioni positivi e le relative prevalenze, sia per i coccidi che per gli altri parassiti reperiti. Su 106 campioni esaminati, 97 sono risultati positivi per coccidi (91,5%), 51 per strongili gastro-intestinali (48%), 44 per strongili bronco-polmonari (41,5%) e 16 (15%) per altri parassiti (cestodi, tricocefali). Le larve di metastrongili sono risultate appartenere ai morfotipi: *Cystocaulus*, *Dictyocaulus*, *Neostrongylus*, *Muellerius*, *Protostrongylus*. Per quanto concerne i coccidi, sono state identificate nel camoscio: *E. riedmuelleri* ed *Eimeria rupicaprae*. Nei 12 campioni di feci di capra invece abbiamo potuto costantemente osservare: *E. arloingi* ed *E. ninakohlyakimovae*. Secondo i risultati dell'analisi discriminante, il raggruppamento delle osservazioni in 4 gruppi diversi (specie) è corretto nell'86,8% dei casi; in particolare l'assegnazione al primo gruppo è stata corretta nel 94% dei casi, quella al secondo nell'85%, quella al terzo nel 70% e quella al quarto nel 98%. In tabella 2 sono riportate le specie di *Eimeria* identificate nel camoscio, il numero di campioni in cui sono state reperite e la relativa percentuale di positività sia fra i campioni esami-

**Tab. 2** - Specie di coccidi identificate nel camoscio d'Abruzzo

Specie	n° campioni positivi	Prevalenza %	
		Sul totale degli esaminati (N = 106)	Sul totale dei positivi per coccidi (N = 97)
<i>Eimeria rupicaprae</i>	86	81	89
<i>Eimeria riedmuelleri</i>	90	85	93



Fig. 1 – *Eimeria rupicaprae*, oocisti immatura.  
 ─── = 1  $\mu$ m

nati sia in quelli positivi. *E. rupicaprae* è stata rinvenuta in 86 campioni (81% degli esaminati e l'89% dei positivi per coccidi). *E. riedmuelleri* era presente in 90 campioni (85% e 93% rispettivamente). I risultati delle misurazioni, sia delle oocisti sia delle sporocisti, sono riportati nelle tabelle: 6, 7, 8, 9.

### 3.1. *Rupicapra rupicapra ornata*

*Eimeria rupicaprae*, Galli-Valerio 1923 (Tab. 6, Fig. 1 e 2). Le oocisti sono ovoidali leggermente appiattite ad una estremità, presentano



Fig. 3 – *Eimeria riedmuelleri*, oocisti immatura (sin) e sporulata.  
 ─── = 1  $\mu$ m



Fig. 2 – *Eimeria rupicaprae*, oocisti sporulata.  
 ─── = 1  $\mu$ m

un distinto micropilo privo di cappa micropilare; la parete è bistratificata, spessa circa 1 $\mu$ m, di colore giallastro e liscia. Sono assenti sia il residuo oocistico che il granulo polare. Le sporocisti sono di forma ovoidale, prive del corpo di Stieda; è presente un residuo sporocistico formato da piccoli granuli. Il tempo di sporulazione è stato di circa 16 giorni a 26 C°.

*Eimeria riedmuelleri* Yakimoff e Matschoulsky, 1940 (Tab. 7, Fig. 3). Le oocisti sono sferiche, con una doppia parete giallo pallido spessa circa 1 $\mu$ m. Il micropilo è assente, come anche il granulo polare ed il residuo oocistico. Le sporocisti sono ovali o sferiche, mancano sia il residuo sporocistico che il corpo di Stieda. Il tempo di sporulazione è stato di circa 16 giorni a 26 C°.

### 3.2. *Capra hircus*

*Eimeria ninakohlyakimovae* Yakimoff e Rastegaieff 1930 (Tab. 8). Le oocisti sono subsferiche, la parete si presenta bistratificata, spessa circa 1 $\mu$ m e di colore giallo con micropilo. E' presente un granulo polare, ma manca il residuo oocistico. Le sporocisti sono di forma ovoidale allungate e presentano sia il residuo sporocistico sia il corpo di Stieda. Il tempo di sporulazione è stato di 23 giorni a 26 C°.

*Eimeria arloingi* (Marotel 1905) Martin 1909 (Tab. 9). Oocisti ellissoidali ed appiattite in corrispondenza del micropilo, ricoperto dalla cappa micropilare. La parete è liscia e spessa circa 1,5 $\mu$ m. Le oocisti presentano un granulo polare, ma non un residuo oocistico. Le sporocisti sono di forma ovoidale con residuo sporo-

**Tab. 3** - Coccidi presenti in toto e specie isolate in campioni provenienti da soggetti liberi (n = 60) e recintati (n = 46).  
■ = differenza statisticamente significativa P < 0.05

	N° campioni positivi		Prevalenza %			
	Liberi	Recint.	Sul totale degli esaminati		Sul totale dei Positivi	
			Liberi	Recint.	Liberi	Recint.
Coccidi	52	45	87	98	-	-
<i>E. rupicaprae</i>	41	45	68	98	79	100
<i>E. riedmuelleri</i>	45	45	75	98	87	100

**Tab. 4** - Coccidi presenti in campioni provenienti dal P. N. A. (n = 50) e dal P.N.M. (n = 56).

	N° campioni positivi		Prevalenza %			
	P.N.A.	P.N.M.	Sul totale degli esaminati		Sul totale dei Positivi	
			P.N.A.	P.N.M.	P.N.A.	P.N.M.
Coccidi	46	50	92	89	-	-
<i>E. rupicaprae</i>	38	48	76	86	83	96
<i>E. riedmuelleri</i>	46	50	92	89	100	100

**Tab. 5** - Coccidi presenti in soggetti in libertà provenienti dal P.N.A. (n = 47) e dal P.N.M. (n = 13).  
■ = differenza statisticamente significativa P < 0.05

	N° campioni positivi		Prevalenza %		% sui positivi	
	P.N.A.	P.N.M.	P.N.A.	P.N.M.	P.N.A.	P.N.M.
Coccidi	44	7	94	54	-	-
<i>E. rupicaprae</i>	36	5	77	34	82	71
<i>E. riedmuelleri</i>	44	7	94	54	100	100

cistico. Il tempo di sporulazione è di 24 giorni a 26 °C. L'analisi della varianza ha evidenziato differenze statisticamente significative nell'emissione di oocisti solo fra animali dei 2 Parchi relativamente ai coccidi in toto (P = 0,048) ed a *E. rupicaprae* (P = 0,006). In tutti e due i casi le emissioni più elevate si sono registrate negli animali del P. N.A. I 106 campioni sono stati divisi in 2 gruppi, uno comprendente tutti quelli provenienti da camosci tenuti in recinto (46 campioni), l'altro quelli appartenenti a camosci allo stato libero (60 campioni). Nel primo gruppo 45 campioni sono risultati positivi (98%) sia per i coccidi in toto che per entrambe le specie di *Eimeria* isolate (Tab. 3). Una differenza statisticamente significativa (P < 0.05) è emersa nei confronti di *E. rupicaprae*, la cui prevalenza appare superiore negli animali tenuti in recinto (98 %), rispetto a quelli in libertà (68%). Un'ulteriore suddivisione dei 106 campioni è stata fatta in base alla loro provenienza (Tab. 4): un gruppo è costituito da quelli raccolti nel P. N.A. (50) e l'altro da quelli provenienti dal P. N.M. (56). Le prevalenze sono simili e non si evidenziano differenze statisticamente signifi-

cative (P > 0,05) per nessuna delle variabili considerate. In tabella 5 il dato è riferito ai soli soggetti in libertà di entrambe i parchi; vi emergono differenze nelle positività per coccidi in generale e per le due specie isolate, significativamente meno rappresentate nel P.N.M.

#### 4. Conclusioni

I coccidi del genere *Eimeria* appaiono, anche in questa indagine coprologica, come i parassiti più diffusi nel camoscio d'Abruzzo, in particolare con le specie, già segnalate nel camoscio alpino, *E. rupicaprae* ed *E. riedmuelleri*. In precedenza Restani (1968), ne aveva osservate 3 in camosci della zona di Cortina d'Ampezzo.

Riguardo alle caratteristiche morfologiche da noi osservate possiamo affermare che sono fondamentalmente in accordo con i dati degli altri Autori. Riportiamo di seguito la comparazione tra le misure da noi rilevate e quelle riportate in letteratura: le oocisti di *E. rupicaprae* hanno una lunghezza maggiore di quella fornita da Restani (1968): 28,03µ contro 27µ il dato si avvicina di più a quello di Supperer & Kutzer (1961): 19 - 28,5µ e di Bock & Lucke (1961) 21,8 - 28µ.

**Tab. 6** - Caratteristiche biometriche di *Eimeria rupicaprae*, Galli-Valerio 1924 (esprese in micrometri).

Oocisti N = 100	Parametro Considerato	Media	Deviazione Standard	Min. e Max.
	Lunghezza	28,03	± 1,67	24,82 - 32,12
	Larghezza	20,62	± 1,57	13,36 - 23,36
	Indice di Forma	1,37	± 0,12	1,25 - 2,40
Sporocisti N = 100	Lunghezza	14,43	± 1,42	10,22 - 16,06
	Larghezza	7,53	± 0,64	5,84 - 8,76

**Tab. 7** - Caratteristiche biometriche di *Eimeria riedmuelleri* Yakimoff & Matschoulsky, 1940 (esprese in micrometri).

Oocisti N = 100	Parametro Considerato	Media	Deviazione Standard	Min. e Max.
	Lunghezza	17,21	± 2,76	14,60 - 24,82
	Larghezza	15,77	± 1,87	14,6 - 23,36
	Indice di Forma	1,09	± 0,11	0,85 - 1,40
Sporocisti N = 100	Lunghezza	8,85	± 2,50	5,84 - 16,06
	Larghezza	5,53	± 1,04	3,65 - 8,76

**Tab. 8** - Caratteristiche biometriche di *Eimeria ninakohlyakimovae* Yakimoff & Rastegaieff, 1930 (esprese in micrometri).

Oocisti N = 100	Parametro Considerato	Media	Deviazione Standard	Min. e Max.
	Lunghezza	23,91	± 3,27	18,98 - 33,58
	Larghezza	19,93	± 2,08	16,06 - 30,66
	Indice di Forma	1,20	± 0,10	1,00 - 1,46
Sporocisti N = 100	Lunghezza	11,88	± 2,24	7,30 - 16,06
	Larghezza	7,11	± 1,38	5,84 - 17,30

La larghezza è pressoché simile a quella di tutti gli Autori succitati. Le sporocisti si presentano più grandi rispetto a quelle descritte da Restani (1968): 14,43 x 7,5 $\mu$  contro 11,8 x 7 $\mu$  ed anche rispetto a quelle riportate dalla letteratura. Tutte le altre caratteristiche sono risultate identiche.

La lunghezza delle oocisti di *E. riedmuelleri* è apparsa inferiore a quella riportata da Restani (1968): 17,21 $\mu$  contro i 19,9 $\mu$ , ma il range di Bock & Lucke (1961): 15,5 - 21,7 $\mu$ , appare più vasto. Anche la larghezza (15,77 $\mu$ ) rientra nelle misure riportate da questi due ultimi Autori, 14 - 20,2 $\mu$ , mentre Restani (1968) la indicava di 16,9 $\mu$ . Per quanto concerne le sporocisti la loro lunghezza (8,85 $\mu$ ) ci risulta maggiore di quella di Restani (1968): 8,2 $\mu$ . Al contrario la larghezza è minore: 5,53 $\mu$  contro 5,8 $\mu$ . In conclusione, le lievi differenze riscontrate fra le nostre oocisti e quelle precedentemente segnalate in letteratura, rientrano in un range di variabilità biologica accettabile, accentuata dal fatto di aver lavorato con una specie diversa che vive da secoli in uno stato di totale isolamento, in una zona geografica solo lontanamente assimilabile a quella Alpina.

Per quanto concerne il tempo di sporulazione, di entrambe le specie, non riteniamo poterci esprimere in quanto nel nostro caso è risultato eccessivamente lungo (16 giorni a 26 C°) rispetto alle segnalazioni della letteratura 6 giorni (Levine & Ivens, 1970). Il medesimo fenomeno è stato riscontrato con le oocisti delle capre: 24 giorni contro i 4 riportati da Levine & Ivens (1970). Possiamo verosimilmente affermare che anche nel nostro caso i coccidi hanno confermato la loro specificità di ospite, anche su animali zoologicamente affini. Nel camoscio non abbiamo riscontrato coccidi riferibili alla capra, nella quale per altro albergano solo specie caratteristiche (*E. arloingi* ed *E. ninakolyakimovae*), pure in presenza di una condivisione dei pascoli in quota. L'analisi discriminante utilizzata per la corretta attribuzione delle specie, si è dimostrata, a nostro avviso, uno strumento utile confermando la corretta suddivisione operata su base morfologica. La presenza di coccidi da noi riscontrata è risultata del 91,5%, inferiore a quella del 100 % segnalata da Restani (1968). Diversa è anche la prevalenza delle due specie di *Eimeria*: *E. rupicaprae*

**Tab. 9** - Caratteristiche biometriche di *Eimeria arloingi* (Marotel, 1905) Martin, 1909 (espresse in micrometri).

Oocisti N = 100	Parametro Considerato	Media	Deviazione Standard	Min. e Max.
	Lunghezza	30,02	± 3,19	23,36 - 39,42
	Larghezza	21,42	± 2,27	17,52 - 29,20
	Indice di Forma	1,41	± 0,11	1,12 - 1,69
Sporocisti N = 100	Lunghezza	13,70	± 1,97	8,76 - 17,52
	Larghezza	7,67	± 1,20	5,84 - 14,60

*prae* è stata rinvenuta, da noi, nel 81% dei campioni, mentre nel precedente lavoro era del 97%; per *E. riedmuelleri* i dati sono molto più simili: 85% sull'Appennino, rispetto all' 84% delle Alpi. Degno di nota l'aver riscontrato una significativa maggior presenza di coccidi, sia in termini di prevalenza, sia di emissione, nel P.N.A. ove si riscontra la più alta concentrazione di soggetti ed è quindi favorito l'interscambio di patogeni. Interessante ci è parsa l'influenza negativa del fattore "confinamento" rispetto alla presenza dei coccidi. La prevalenza è sempre superiore negli animali in recinto (anche di notevoli dimensioni): significativamente tale per *E. rupicaprae*. Il fenomeno può essere attribuito ad una concentrazione, in spazi comunque ristretti, dei due attori animati, l'ospite e il parassita, il cui rapporto è stato modulato dall'ambiente, che certamente ha favorito la concentrazione e la permanenza delle oocisti (Poglayen, 1983). La risultante di questa interazione ha comportato un maggior numero di animali colpiti. Una sorta di mediazione immunitaria è probabilmente intervenuta per mantenere, anche nelle condizioni di cattività, un'intensità di infezione simile a quella degli animali in libertà (non abbiamo infatti notato differenze statisticamente significative negli esami quantitativi fra i due gruppi). L'aver potuto osservare il ristabilimento di una sorta di equilibrio, non deve comunque farci considerare con eccessiva leggerezza il rischio patologico insito in operazioni di re-introduzione che comportino il confinamento degli animali (Poglayen, 1991). Infatti ad una maggiore prevalenza di infezione corrisponde un numero globale di oocisti per grammo feci, espressione della intensità dell'infezione, identico; ciò conferma come nella popolazione degli animali liberi, la distribuzione dei parassiti tenda ad assumere forme maggiormente aggregate, indice di un rapporto equilibrato fra Ospite/Parassita/Ambiente, mentre la cattività sembra fornire modelli distributivi tendenzialmente casuali e quindi, dal punto di vista sanitario, certamente più rischiosi.

Da sottolineare infine che la presente indagine segnala, per la prima volta la presenza di coccidi nel camoscio d'Abruzzo.

### Bibliografia

- BOCK J. & LUCKE D. (1961) - Untersuchungen über kokzidien des schalenwildes. *Tierärztl. Umsch.*, 16; 421-425.
- EUZEBY J. - Diagnostic expérimental des *Helminthoses* animales. *Inf. Tec. Ser. Vet.*, Min. Agric., Vol. 1; 1981, paris.
- GALLI-VALERO B. (1923) - Parasitologische untersuchungen und beiträge zur parasitologischen technik. *Zentbl. Bakt. Parasitkde*, 91; 120-125.
- LEVINE N. D. & IVENS V. - The coccidian parasites of ruminants. *Ill. Biolog. Monog.*, Univ. Of illinois press, 1970, urbana.
- MARTIN A. (1909 b.) - Les coccidioses des animaux domestiques. C. Coccidiose du mouton *Rev. Vet. Toulouse*, 34; 341 - 345.
- MASINI F. & LOVARI S. (1988) - Systematics, phylogenetic relationships and dispersal of the chamois (*rupicapra* spp.). *Quat. Research* 30; 339-349.
- MASINI F. - Wurmian and holocene chamois of italy. *The biology and management of mountain ungulates*. Croom helm, 1985, london, 31-44.
- NASCETTI G., LOVARI S., LANFRANCHI P., BERDUCOU C., MATTEUCCI S., ROSSI L. & BULLINI L. - Revision of *Rupicapra* genus. Iii. Electrophoretic studies demonstrating species distinction of chamois population of the alps from those of the appennines and pyrenees. *The biology and management of mountain ungulates*. Croom helm, 1985, london, 56-62.
- PELLERDY L. - Coccidia and coccidiosis. *Akademiai kiado*, 1965, i ed., Budapest.
- POGLAYEN G. (1983) - Considerazioni sui coccidi dei mammiferi selvatici. *Parassitologia*, 25; 185-188.
- POGLAYEN G. (1991) - Mammiferi selvatici: interpretazione delle informazioni parassitologiche in chiave gestionale. *Ricerche di biologia della selvaggina*, 19; 383 -391.
- RESTANI R. (1968) - Ricerche sui coccidi presenti in camosci (*Rupicapra rupicapra* l.) della zona di Cortina d'Ampezzo. *Parassitologia*, 10; 1-10.
- SUPPERER R. & KUTZER E. (1961) - Die kokzidien von reh, hirsch und gemse. *Jub. Jahrbuch des o. A. F. W.*; 128-136.
- YAKIMOFF W. L. & MATSCHOUJSKY S. N. (1940) - Die kokzidien der gemse. *Schweizer arch. Tierheilk*, 82; 16-18.
- YAKIMOFF W. L. & RASTEGAIIEFF E. F. (1930) - Zur frage über coccidien der ziegen. *Arc. Protistenk.* 70; 185 - 191.

# STUDI SULLA PRESENZA DELLA PARATUBERCOLOSI IN CERVI DEL PARCO NATURALE GRAN BOSCO DI SALBERTRAND

Nebbia P., Ferroglio E., Robino P., Rosati S., Rossi L. & Meneguz G.

Dipartimento di Produzioni Animali, Epidemiologia ed Ecologia, Via L. Da Vinci, 44 10095 - Grugliasco (TO)

**Riassunto** - E' stata applicata una tecnica di Polymerase Chain Reaction (PCR) per la diagnosi di paratubercolosi in cervi provenienti dal Parco Naturale Gran Bosco di Salbertrand e da aree limitrofe dell'Alta Val Susa (Alpi Cozie, Torino). Sono stati esaminati campioni di linfonodi appartenenti a 15 soggetti, di cui 11 sani e 4 con paratubercolosi clinicamente manifesta. Tutti i soggetti sono risultati positivi alla PCR. Su 10 cervi esaminati con test sierologici (AGID ed ELISA), 9 sono risultati negativi mentre un soggetto con sintomatologia in atto era positivo ad entrambi i test. Da quest'ultimo soggetto è stato isolato un ceppo di *M. (avium) paratuberculosis*. In precedenti ricerche, bovini all'alpeggio nella stessa area di studio erano risultati AGID-positivi per paratubercolosi. Con il proseguimento delle ricerche sarà possibile valutare il ruolo del cervo come eventuale fonte d'infezione per altri ruminanti domestici e selvatici.

**Abstract** - Presence of paratuberculosis in red deer from the Gran Bosco Park of Salbertrand. Mycobacterium (*avium*) paratuberculosis infection was detected, using Polymerase Chain Reaction (PCR), in 15 red deer coming from the Parco Naturale Gran Bosco di Salbertrand and the surrounding areas of the high Susa Valley (Cozie Alps, Turin). A *M. (avium) paratuberculosis* strain was isolated from mesenteric lymph nodes of a deer with clinical signs. AGID and ELISA tests failed to reveal specific antibodies in 9 out of 10 deer tested. In a previous survey, cattle herds from the same area tested positive to AGID. The role of red deer as a source of infection for other sympatric wild and domestic ruminants is under investigation.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 257- 260

## 1. Introduzione

La paratubercolosi è un'infezione cronica che colpisce ruminanti domestici e selvatici; fra questi ultimi i cervidi risultano essere particolarmente sensibili (Riemann *et al.*, 1979; Power *et al.*, 1993; Pacetti *et al.*, 1994; De Lisle e Collins, 1995; Stehman, 1996).

Questi, in genere, si ammalano entro i primi due anni di età con scadimento delle condizioni generali, diminuzione di peso e in qualche caso diarrea. Gli adulti raramente presentano una sintomatologia conclamata, anche se risultano sierologicamente positivi e/o presentano lesioni anatomo-patologiche (Pacetti *et al.*, 1994).

Gli animali infetti, a seconda di vari fattori, possono comportarsi da eliminatori o da non-eliminatori. Gli esami colturali (da feci e da tessuti intestinali) richiedono tempi di esecuzione estremamente lunghi (12-16 settimane) a fronte di una sensibilità non molto elevata. Anche i rilievi istopatologici possono essere indistinguibili da quelli causati da altri micobatteri (De Lisle e Collins, 1995).

I problemi legati alla diagnosi di questa malattia hanno sicuramente ostacolato le ricerche epidemiologiche volte sia a rilevare la diffusione dell'infezione nei selvatici sia a studiare le possibilità di cross-trasmissione di *Mycobacterium (avium) paratuberculosis* fra questi e i ruminanti domestici.

L'impiego di tecniche di biologia molecolare permette tuttavia di superare alcuni dei problemi accennati grazie all'impiego di primers che amplificano la sequenza di inserzione IS900 specifica di *M. (avium) paratuberculosis*.

In questo lavoro si è inteso valutare la presenza dell'infezione nei cervi presenti in un'area dell'Alta Val Susa dove, negli anni precedenti, i bovini alpeggianti presentavano positività anticorpali nei riguardi dell'infezione paratubercolare.

## 2. Materiali e metodi

### Area di studio

I cervi (*Cervus elaphus hyppelaphus*) in esame provengono dal Parco Naturale Gran Bosco di Salbertrand e da zone limitrofe situate in Alta Val Susa (To). Estinto nell'area verso il 1700, il cervo è stato reintrodotta nella prima metà degli anni '60. I soggetti fondatori (14) provenivano dalla Slovenia e da un giardino zoologico. Dal momento della reintroduzione la popolazione in oggetto non ha avuto contatti con cervi provenienti da altre aree e attualmente ammonta a circa 1100 capi. Nell'area sono presenti altri ungulati quali il camoscio alpino (*Rupicapra rupicapra*), il cinghiale (*Suis scrofa*), il capriolo (*Capreolus capreolus*) e lo stambecco (*Capra ibex*). Nel periodo dell'alpeggio (giugno-settembre) 4800 bovini e circa 6000 ovi-

**Tab. 1 - Risultati delle prove di laboratorio effettuate sul siero e sui linfonodi di 15 cervi provenienti dall'Alta Val Susa per la ricerca di positività a *M. (avium) paratuberculosis*.**

Campione	Sintomi	Coltura	PCR	AGID	ELISA
1	-	n.e.	+	-	-
2	-	n.e.	+	-	-
3	-	n.e.	+	-	-
4	-	n.e.	+	-	-
5	-	n.e.	+	-	-
6	-	n.e.	+	-	-
7	-	cont.	+	-	-
8	-	n.e.	+	-	-
9	-	cont.	+	-	-
10	-	-	+	n.e.	n.e.
11	+	cont.	+	n.e.	n.e.
12	+	-	+	n.e.	n.e.
13	+	-	+	n.e.	n.e.
14	+	+	+	+	+
15	+	cont.	+	n.e.	n.e.

n.e = non eseguito

cont. = contaminazione da flora microbica

caprini condividono gli stessi pascoli dei ruminanti selvatici.

### Animali

Nel complesso sono stati esaminati i linfonodi di 15 cervi (vedi tabella 1) catturati durante le stagioni venatorie dal 1995 al 1998, di cui 10 clinicamente sani e 5 con sintomatologia conclamata (4 trovati morti e 1 soppresso a scopo eutanasico).

Da ciascun animale sono stati prelevati i linfonodi meseraici e per 10 soggetti è stato possibile ottenere anche il siero di sangue. Tutti i campioni sono stati stoccati a  $-20^{\circ}\text{C}$  fino al momento dell'uso.

### Esame colturale

Porzioni di linfonodi sono state omogeneizzate mediante Stomacher e decontaminate con Cloruro di benzalconio (*Sigma Chemical Co.*) allo 0.75% per una notte. Tre aliquote di ciascun campione sono state seminate su terreno Herrold's Egg Yolk addizionato e non con il fattore di crescita Mycobactin J (*Allied Monitor Inc.*) e con sodio piruvato (*Sigma Chemical Co.*) (Belletti e Zavanella, 1987). Le sospensioni sono state incubate a  $37^{\circ}\text{C}$  per 16 settimane.

### Polymerase Chain Reaction (PCR)

Dai linfonodi sono stati prelevati sterilmente 50 mg di tessuto midollare che è stato sottoposto a doppio trattamento con proteinasi K. Per l'estrazione del DNA batterico si è proceduto

seguendo il protocollo del Quiamp Tissue Kit (*Quiagen-Hilden*). I campioni di DNA sono stati analizzati mediante PCR usando primers specifici per amplificare la porzione di 229 bp interna alla sequenza di inserzione IS900.

### Esami sierologici

AGID – i sieri sono stati testati secondo la metodica di Sherman et al. (1984), utilizzando come antigene *M. avium paratuberculosis* strain 18 (*Allied Monitor Inc.*). La lettura è stata effettuata dopo 24 e 48 ore.

ELISA – il test è stato eseguito secondo il protocollo in uso presso i nostri laboratori (Maglione et al., 1997) impiegando lo stesso antigene usato per il test AGID; come anticorpi marcati sono state usate IgG anti-cervo del commercio (*Kirkegaard and Perry Lab, Inc. MD*). La lettura è stata effettuata a 410 nm.

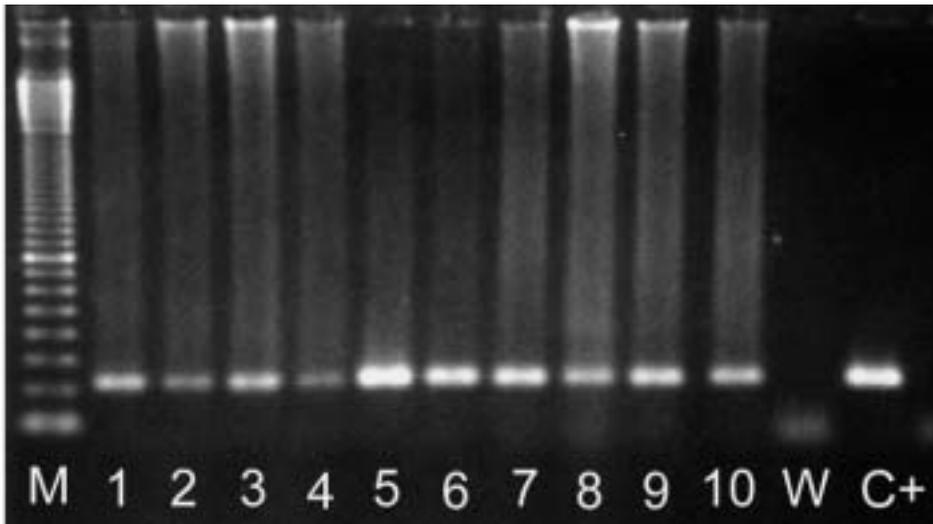
In entrambe le prove sono stati usati sieri di controllo positivi e negativi.

### 3. Risultati

I risultati della PCR e degli altri test eseguiti sono mostrati in tabella 1 ed in figura 1.

### 4. Discussione

Sebbene il basso numero di campioni analizzati non consenta di trarre conclusioni sulla reale diffusione dell'infezione nella popolazione di cervi studiata, il riscontro mediante PCR (Fig.1) di *M. (avium) paratuberculosis* in tutti gli animali esaminati e l'isolamento effettuato a



**Fig. 1** – Amplificazione del frammento di 229 bp dell'inserzione IS900 di *M. (avium) paratuberculosis* in 10 dei 15 campioni linfonodali di cervo testati (M= marker, 1-10= campioni, W= controllo negativo, C+ = controllo positivo).

partire dai linfonodi di un soggetto, indicano come l'infezione sia presente nei cervi dell'Alta Val Susa.

I risultati degli esami sierologici, negativi in 9 casi esaminati su 10, concordano con Collins et al., (1990) nell'indicare una bassa sensibilità dell'ELISA e dell'AGID in soggetti in cui l'infezione decorre in modo sub-clinico. L'unica siero-positività da noi trovata si riferisce, in effetti ad un caso clinicamente manifesto, caratterizzato da imponenti alterazioni della parete intestinale e dei linfonodi meseraici. Anche Perez et al. (1997) segnalano come la risposta immunitaria sia principalmente di tipo umorale in caso di lesioni diffuse e di tipo cellulo-mediato nelle lesioni localizzate.

La metodica di PCR da noi adottata si è rivelata, rispetto a tecniche più tradizionali, sensibile, specifica e di rapida esecuzione (Vary et al., 1990; Collins et al., 1993; Guillon et al., 1993). Inoltre la possibilità di analizzare anche campioni in non perfetto stato di conservazione si rivela estremamente vantaggiosa nello studio dell'epidemiologia della paratubercolosi nei selvatici.

Non risultando ad oggi segnalazioni di paratubercolosi nella popolazione slovena da cui originano i cervi dell'Alta Val Susa, è probabile che il focolaio in atto derivi dall'utilizzo di pascoli frequentati da bovini infetti. Recenti studi hanno evidenziato, peraltro, come una popolazione di cervi possa mantenere l'infezio-

ne per oltre 10 anni (Cook et al. 1997) in assenza di qualsiasi nuovo contatto con ruminanti domestici infetti.

Gli Autori desiderano ringraziare il personale del PNGBS e Aldo Tolosano per l'aiuto fornito nella raccolta del materiale. Ricerca parzialmente eseguita con fondi Interreg 2 e MURST 40%.

### Bibliografia

- BELLETTI G.L., ZAVANELLA M. (1987) - L'esame colturale delle feci per la diagnosi di paratubercolosi. *Selezione Veterinaria*, 28: 891-896.
- COLLINS D.M., GABRIC D.M., DE LISLE G.W. (1990) - Identification of two groups of *Mycobacterium paratuberculosis* strain by reaction endonuclease analysis and DNA hybridization. *Journal Clinical Microbiology*, 28: 1591-1596.
- COLLINS D.M., STEPHENS D.M. & DE LISLE G.W. (1993) - Comparison of polymerase chain reaction tests and faecal culture for detecting *Mycobacterium paratuberculosis* in bovine faeces. *Veterinary Microbiology*, 36: 289-299.
- COOK W.E., CORNISH T.E., SHIDELER S., LASLEY B. & COLLINS T. (1997) - Radiometric culture of *Mycobacterium avium paratuberculosis* from the feces of tule elk. *Journal of Wildlife Disease*, 33: 635-637.
- DE LISLE G.W. & COLLINS D.M. (1995) - Johne's disease in red deer. *The Veterinary Record*, 137: 336
- GUILLOU J.P., HÉNAULT S., OSTYN A. & THOREL M.F. (1993) - Utilization de la méthode d'amplification enzymatique in vitro pour la detection de *Mycobacterium paratuberculosis* dans les fèces. *Rev. Sci.tech. Off. int. Epiz.*, 12: 605-615.
- MAGLIONE E., NEBBIA P., ROBINO P. & MIGLIETTI E.

- (1997) - Paratubercolosi nel bovino. *Large Animals Review*, 4:29-33.
- PACETTI A., BELLETTI G., FABBI M., MUTINELLI F. & GENCHI C. (1994) - *Paratubercolosi del cervo*. Documenti veterinari, 4:67-70.
- PEREZ V., TELLECHEA J., CORPA J.M. GUTIERREZ M.M., BOLEA R., BADIOLA J.J. & GARCIA MARIN J.F. (1997) - Pathology and diagnostic tests in ovine paratubercolosis. *Proceedings 15th meeting of the European Society of Veterinary Pathology*, 84
- POWER S.B., HAAGSMA J. & SMYTH D.P. (1993) - Paratubercolosis in farmed red deer (*Cervus elaphus*) in Ireland. *The Veterinary Record*, 132: 213-216.
- RIEMANN H., ZAMEN M.R., RUPPANNER R., AALUND O., JORGENSEN J.B., WORSAAE H. & BEHYMER D. (1979) - Paratubercolosis in cattle and free-living exotic deer. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 175: 841-843.
- SHERMANN D.M., HARKHAM J.F. & BATES F. (1984) - Agar Gel Immunodiffusion tests for diagnosis of clinical paratubercolosis in cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 185: 179-182.
- STEHMAN S. (1996) - Paratubercolosis in small ruminants, deer, and south american camelids. *Veterinary clinics of north America: Food animal practice*, 12: 441-455.
- VARY P.H., ANDERSEN P.R., GREEN E., HERMON-TAYLOR J. & MC FADDEN J.J. (1990) - Use of highly specific DNA probes and the Polymerase Chain Reaction to detect *Mycobacterium paratubercolosis* in Johne's disease. *Journal Clinical Microbiology*, 28: 933-937.

# STUDIO DELLA POPOLAZIONE ELMINTICA IN VOLPI (*VULPES VULPES*) DEL TRENTINO ALTO-ADIGE

Manfredi M. T.\*, Giacometti A.\*, Fraquelli C.\*\* , Piccolo G.\*

\* Istituto di Patologia Generale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi, via Celoria 10 - 20133 Milano;

\*\* Istituto Zooprofilattico delle Venezie, sezione diagnostica di Trento, via Lavisotto 129 - 38100 Trento

**Riassunto** - È stata studiata l'elmintofauna gastrointestinale e broncopolmonare di 42 Volpi abbattute nella provincia di Trento (Trentino Alto-Adige). Sono stati isolati i seguenti elminti gastrointestinali: *Toxocara canis* (P= 56%), *Uncinaria stenocephala* (P= 51%), *Taenia polyacantha* (P= 56%), *Aonchotheca putorii* (P= 17%), *Pterygodermatites affinis* (P= 17%), *Trichuris vulpis* (P= 12%), *Molineus legerae* (P= 10%), *Mesocestoides lineatum* (P= 5%), *Cyathospirura sp* (P=5%), *Pharyngostomum cordatum* (P= 2%), *Nematodi Oxyuridae* (P=2%). Nell'apparato broncopolmonare sono stati reperiti *Crenosoma vulpis* (P= 17%) e *Eucoleus aerophilus* (P= 15%). *Pharyngostomum cordatum* e *Molineus legerae* non sono stati riscontrati in precedenza. I Nematodi Oxyuridae sono da ritenersi un ritrovamento occasionale.

**Abstract - Helminthofauna of the fox *Vulpes vulpes* in Trentino, Alto-Adige.** The gastrointestinal helminths and lungworms from 42 red foxes shot in the province of Trento (Trentino Alto-Adige, North-Eastern Italy) have been analysed. The following gastrointestinal helminths were found: *Toxocara canis* (P= 56%), *Uncinaria stenocephala* (P= 51%), *Taenia polyacantha* (P= 56%), *Aonchotheca putorii* (P= 17%), *Pterygodermatites affinis* (P= 17%), *Trichuris vulpis* (P= 12%), *Molineus legerae* (P= 10%), *Mesocestoides lineatum* (P= 5%), *Cyathospirura sp* (P=5%), *Pharyngostomum cordatum* (P= 2%) and *Oxyuridae* (P=2%). *Crenosoma vulpis* (P= 17%) and *Eucoleus aerophilus* (P= 15%) were found in the bronchus. *Pharyngostomum cordatum* and *Molineus legerae* were not found previously. *Oxyuridae* should be considered as an accidental finding.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 261- 263

## 1. Introduzione

L'elevata diffusione della Volpe (*Vulpes vulpes*) sul territorio nazionale e in modo particolare nelle regioni settentrionali, la grande capacità di adattamento alle modificazioni biotiche e abiotiche, l'elevata socialità intraspecifica sono tutti fattori che contribuiscono a determinare il ruolo di questo canide quale serbatoio di malattie batteriche, virali e parassitarie. Per altro, il suo carattere opportunista la spinge a frequentare le aree periurbane aumentando considerevolmente le probabilità di interazione con l'uomo e gli animali domestici. Tra gli agenti patogeni di natura parassitaria, la Volpe è responsabile del mantenimento del ciclo di *Echinococcus multilocularis* che è causa di una antropozoonosi grave e che oggi sembra avere una diffusione inaspettata (Lucius e Bilger, 1995). In Italia non è stata finora segnalata la presenza di questo Cestode ma in alcune regioni Europee sono stati riscontrati valori di prevalenza consistenti come in Lussemburgo (15%), nell'Alta Savoia francese (47%) e in Germania (Tübingen, 55.6%) (Schott e Müller, 1989; Pétauy *et al.* 1990, Brochier *et al.*, 1992). Dati parassitologici sulle popolazioni di Volpi presenti in Italia sono numerosi ma pochi riguardano le popolazioni dell'arco alpino (Rossi *et*

*al.*, 1983; Iori *et al.*, 1990, Pozio, 1991; Stancampiano *et al.*, 1998). La contiguità di quest'area con le regioni europee in cui è presente l'infestazione da *E. multilocularis*, la notevole mobilità della Volpe sul territorio, le favorevoli condizioni geoclimatiche della zona (lo sviluppo delle uova *E. multilocularis* richiede una temperatura media inferiore a 0° C per almeno 80 giorni, Aubert *et al.*, 1987) sono fattori di possibile diffusione di questo Cestode nel nostro paese ed è sulla base di tali considerazioni che in questa nota vengono riferiti i risultati delle infestazioni elmintiche riscontrate in Volpi abbattute nel territorio del Trentino.

## 2. Materiali e metodi

Sono state esaminate 42 Volpi abbattute nella provincia di Trento nell'autunno-inverno 1996. L'intero apparato gastrointestinale (fegato incluso) e l'apparato broncopolmonare, prelevati e congelati subito dopo l'abbattimento, sono stati analizzati secondo le tecniche parasitologiche usuali. Gli elminti reperiti sono stati identificati previa chiarificazione in lattofenolo (Nematodi) o colorazione con carminio-aceto alluminico (Trematodi e Cestodi) in accordo con le chiavi morfologiche di Verster (1969), Jancev (1986a, 1986b), Durette-Desset

e Pesson (1987), Jancev e Genov (1988), Skrjabin et al. (1970). Sono stati calcolati i valori di prevalenza (P= percentuale di ospiti infestati), abbondanza (A= numero medio di parassiti per ospite) e frequenza (F= percentuale di una specie parassita sul totale) per ogni specie elmintica riscontrata.

### 3. Risultati

Le specie elmintiche rinvenute nel campione di Volpi sono riportate nella Tabella 1. Sono state classificate 10 specie di Nematodi (*Toxocara canis*, *Uncinaria stenocephala*, *Aonchotheca putorii*, *Crenosoma vulpis*, *Pterygodermatites affinis*, *Eucoleus aerophilus*, *Trichuris vulpis*, *Molineus legerae*, *Cyathospirura* sp. e esemplari di Oxiuridae), 2 specie di Cestodi (*Taenia polyacantha*, *Mesocestoides lineatum*) e una specie di Trematode (*Pharyngostomum cordatum*). Un solo Nematode non è stato identificato a causa del cattivo stato di conservazione. Tutte le Volpi sono risultate positive per una o più specie elmintiche. In particolare tutte sono risultate infestate da Elminti gastrointestinali e solo il 17.3% da Elminti polmonari. Nessun parassita è stato riscontrato a livello epatico. Le cariche parassitarie variavano da un minimo di 1 ad un massimo di 340 esemplari. Quelle più frequentemente osservate erano costituite da meno di 40 parassiti (76% delle Volpi).

### 4. Discussione

*Toxocara canis* e *Uncinaria stenocephala* sono i parassiti che ricorrono con prevalenza più alta nella Volpe in accordo con la maggior parte dei dati ottenuti da popolazioni di Volpi in varie regioni europee (Williams 1976; Pétavy e Deblock, 1980; Gortázar et al., 1998) e italiane (Rossi et al., 1983; Leoni et al., 1986; Poglayen et al., 1988; Iori et al., 1990). Nell'ambito dei

Cestodi, *Taenia polyacantha* i cui principali ospiti intermedi sono dei Roditori è stata reperita con il valore di abbondanza più elevato. A livello di apparato broncopolmonare *Crenosoma vulpis* e *Eucoleus aerophilus* sono stati i Nematodi più frequentemente riscontrati analogamente a indagini precedenti (Poli et al., 1985; Iori et al., 1990). Per altro i risultati indicano la notevole sensibilità della Volpe nei confronti di diverse specie elmintiche sebbene rinvenute con valori modesti di prevalenza e abbondanza quali *Molineus legerae*, *Cyathospirura*, e *Pharyngostomum cordatum*. Relativamente a *Molineus legerae* riscontrato solo in 4 Volpi, è stato in precedenza segnalato in Belgio e in Francia (Durette-Desset e Pesson, 1987). La presenza di questa specie non è da ritenere un reperto eccezionale in quanto i Nematodi del genere *Molineus* risultano essere particolarmente associati ai Carnivori come ad esempio *Molineus patens* che è di norma riscontrato in diverse specie di Mustelidi. I Nematodi appartenenti al genere *Cyathospirura* sembrano essere parassiti comuni in Gatti selvatici e randagi e occasionalmente sono stati rinvenuti nelle Volpi e in altri Canidi in Australia (Ryan, 1976). In Italia è la prima segnalazione, sebbene in Europa viene elencato fra gli elminti della Volpe (Carvalho-Varela et al. 1985). La presenza di Nematodi Oxyuridae invece deve essere considerato un reperto del tutto accidentale in quanto questi parassiti si osservano abitualmente nei piccoli Roditori (Arvicole e Microtini) che costituiscono le prede principali della volpe. *Pharyngostomum cordatum* è un Trematode che viene riscontrato per la prima volta in Volpi italiane e che in Europa è stato segnalato in precedenza in *Felis silvestris* in Bulgaria (Jancev e Genov, 1978). Il ciclo di questo parassita è sconosciuto, probabilmente

Tab. 1 - Elmintofauna di *Vulpes vulpes*

	Prevalenza	Abbondanza	Frequenza
<i>Toxocara canis</i>	56.1%	1.2	4.8%
<i>Uncinaria stenocephala</i>	51.2%	3.3	13.5%
<i>Taenia polyacantha</i>	24.4%	13.0	53.7%
<i>Aonchotheca putorii</i>	17.1%	0.6	2.5%
<i>Crenosoma vulpis</i>	17.3%	1.7	6.9%
<i>Pterygodermatitis affinis</i>	17.1%	0.7	3.3%
<i>Eucoleus aerophilus</i>	14.6%	1.4	5.8%
<i>Trichuris vulpis</i>	12.2%	0.9	3.8%
<i>Molineus legerae</i>	9.8%	0.05	0.2%
<i>Cyathospirura</i> sp.	4.9%	0.05	0.1%
<i>Mesocestoides lineatum</i>	4.9%	1	4.0%
<i>Pharyngostomum cordatum</i>	2.4%	0.2	1.0%

Pesci d'acqua dolce e Rettili infestati dalle metacercarie del Trematode possono fungere da secondo ospite intermedio o ospite paratenico (Neveu Lemaire 1936; Chai *et al.*, 1990). Il mancato riscontro di *Echinococcus multilocularis* non esclude che questa specie possa essere presente nell'area di studio tenuto conto che la sua diffusione potrebbe essere legata a delle frequenze molto basse che richiedono l'esame di un numero elevato di soggetti (Deplazes e Eckert, 1996).

### Bibliografia

- AUBERT M.F.A., JACQUIER P., ARTOIS M., BARRAT M. J. & BASILE A. (1987) - Le portage d'*Echinococcus multilocularis* (*Vulpes vulpes*) en Lorraine. *Rec. Méd. Vét.*, 10: 839-843.
- BROCHIER B., COPPENS P., LOSSON B., AUBERT M.F.A., BADUIN B., BARRAT M.J., COSTY F., PEHARPRE D., POUPLARD L. & PASTORET P.P. (1992) - Énquete sur l'infestation du renard roux (*Vulpes vulpes*) par *Echinococcus multilocularis* en province de Luxembourg (Belgique). *Ann. Méd. Vét.*, 136: 497-501.
- CARVALHO-VARELA M., MARCOS M.V.M. & GRACIO-MOURA C.C. (1985) - Quelques aspects écologiques de l'elminthofaune du Renard roux (*Vulpes vulpes*) dans la zone paléarctique. I. *Zoogéographie des helminthes XVIIth Congress of the International Union of Game Biologists, Brussels*: 729-736.
- CHAI J. Y., SOHN W. M., CHUNG H. L., HONG S.T. & LEE S.H. (1990) - Metacercariae of *Pharyngostomum cordatum* found from the European grass snake, *Rhabdophis tigrina*, and its experimental infection to cats. *Kisangchunghak-Chapchi*, 28: 175-181.
- DEPLAZES P. & ECKERT J. (1996) - Diagnosis of the *Echinococcus multilocularis* infection in final hosts. *Appl. Parasitol.*, 37: 245-252
- DURETTE-DESSET M.C. & PESSON B. (1987) - *Molineus patens* (Dujardin, 1845) (Nematoda, Trichostrongyloidea) et autres espèces décrites sous ce nom. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 62: 326-344.
- GORTÁZAR C., VILLAFUERTE R., LUCIENTES J. & FERNÁNDEZ-DE-LUCO D. (1998) - Habitat related differences in helminth parasites of red foxes in the Ebro valley. *Veterinary Parasitology*, 80: 75-81.
- IORI A., COSTANTINI R. & CANCRINI G. (1990) - Parassiti di volpi (*Vulpes vulpes*) provenienti da alcune regioni italiane. *Parassitologia*, 32: 153-154.
- JANCEV J. (1986a) - Morphology, taxonomy, and distribution of species of the genus *Mesocestoides* in Bulgaria. *Khel'mintologiya*, 21: 45-65.
- JANCEV J. (1986b) - Morphology, taxonomy, and distribution of the species of the genus *Uncinaria* (Frölich, 1789) from the predatory mammals in Bulgaria. *Khel'mintologiya*, 22: 55-66.
- JANCEV J. & GENOV T. (1978) - Helminthofauna of the wild cat (*Felis silvestris*) in Bulgaria. *Khel'mintologiya*, 6: 81-101.
- JANCEV J. & GENOV T. (1988) - On the morphology and taxonomy of species from the genus *Crenosoma* Molin, 1861 (Nematoda: Crenosomatidae) in Bulgaria. *Khel'mintologiya*, 25: 45-61.
- LUCIUS R. & BILGER B. (1995) - *Echinococcus multilocularis* in Germany: increased awareness or spreading of a parasite? *Parasitology Today*, 11: 430-434.
- NÉVEU-LEMAIRE M. (1936) - *Traité d'helminthologie médicale et vétérinaire*. Vigot Frères, Paris.
- PÉTAVY A.F. & DEBLOCK S. (1980) - Helminthes du renard commun (*Vulpes vulpes*) dans la région du Massif Central (France). *Annales de Parasitologie*, 55: 379-391.
- PÉTAVY A.F., DEBLOCK S. & PROST C. (1990) - Epidémiologie de l'échinococcose alvéolaire in France. I. - Helminthes intestinaux du renard commun (*Vulpes vulpes*) en Haute Savoie. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 65: 22-27.
- POGLAYEN G., RODA R., RAVAIOLI C., LEONI B. & GUBERTI V. (1988) - Aggiornamenti sulla diffusione dei parassiti di *Vulpes vulpes* in provincia di Forlì. Implicazioni ecologiche e gestionali. *Atti I Convegno Nazionale di Biologia della Selvaggina*, 14: 441-446.
- POLI A., ARISPICI M., MARCONCINI A., MANCIANTI F. & CORSI C. (1985) - Lungworms in red foxes (*Vulpes vulpes*) from the maritime provinces of Tuscany. *27 Internationalen Symposiums über die Erkrankungen der Zootiere*. St. Vincent/Torino, 507-512.
- POZIO E. (1991) - La volpe (*Vulpes vulpes* L.) principale serbatoio della trichinellosi in Italia. *Hystrix*, 3: 175-186.
- ROSSI L., IORI A. & CANCRINI G. (1983) - Osservazioni sulla fauna parassitaria della popolazione di volpi presente nel Parco regionale "La Mandria". *Parassitologia*, 25: 340-343.
- RYAN G.E. (1976) - Helminth parasites of the fox (*Vulpes vulpes*) in South Wales. *Australian Veterinary Journal*, 52: 126-131.
- SCHOTT E. & MULLER B. (1989) - Prevalence of *Echinococcus multilocularis* in foxes in the district of Tübingen, West Germany. *Tierarztl. Umschau*, 44: 367-370.
- SKRJABIN K.I., SHIKHOBALOVA N.P. & ORLOV I. V. (1970) - *Trichocephalidae and Capillariidae of animals and man and the diseases caused by them*. Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem.
- STANCAMPIANO L., CAPELLI G., SCHIAVON E., MUTINELLI F. & BOZZOLAN G. (1998) - Trichinellosis, sarcoptic mange, filariosis and intestinal helminths stability in a fox population (*Vulpes vulpes*). *Parassitologia*, 40 (Supplemento 1): 171
- VERSTER A. (1969) - A taxonomic revision of the genus *Taenia* Linnaeus, 1758 s.str. Onderstepoort. *J. Vet. Res.*, 36: 3-58.
- WILLIAMS B.M. (1976) - The intestinal parasites of the red fox in South West Wales. *Br. Vet. J.*, 132: 309-312.



# OSSERVAZIONI SULLO STATO SANITARIO DI ALCUNI SELVATICI IN CAMPANIA: INDAGINE SIEROLOGICA

Siragusa C., Casapulla R., Baldi L., Guarino A., Mizzi V., Romano R.

I.Z.S. del Mezzogiorno Via Salute, 2 - Portici (NA)

**Riassunto** - Nel presente lavoro abbiamo indagato sulla diffusione delle più frequenti patologie di interesse veterinario in alcune specie selvatiche presenti sul territorio della nostra Regione per effettuare osservazioni preliminari per una futura e più approfondita valutazione dello stato sanitario della fauna selvatica campana. I soggetti esaminati provenivano da aree protette o suburbane. I campioni ematici sono stati prelevati da animali di cattura o da cadaveri giunti alla nostra osservazione per indagini autoptiche. Le specie, le rispettive malattie infettive ed i test utilizzati sono di seguito elencati: Volpe e Faina (leishmaniosi e neosporosi, Immunofluorescenza indiretta - I.F.I.), daino e cervo (brucellosi, Siero Agglutinazione Rapida -S.A.R. e Fissazione del Complemento F.D.C.). Per tutte le specie citate sono state eseguite inoltre le seguenti indagini sierologiche: I.F.I. per toxoplasmosi e rickettsiosi, Test di Microagglutinazione - M.A.T. per leptospirosi. I risultati hanno segnalato una positività per toxoplasmosi (1 volpe e due cervi) e leptospirosi (2 volpi); la sieronegatività nei confronti della neosporosi, sia pure nella sola faina e nelle cinque Volpi esaminate, è a nostro avviso un dato interessante in considerazione della diffusione di questa patologia nella specie canina nella stessa area indagata.

**Abstract - Observations on sanitary conditions of some wild animals in Campania: serological investigation.** In this work we analyse the occurrence of the most common veterinary diseases in some wild animals of Campania, in order to obtain preliminary information for future studies. The examined samples come from protected wildlife areas or from the suburbs of Caserta and Naples. Blood samples were taken from captured animals or from carcasses sent to us for autopsy. Foxes and one beech-marten were screened for leishmaniasis and neosporosis, (Indirect Fluorescent Antibody Test - I. F.A.T.), fallow deer and red deer for brucellosis (Rapid Slide Agglutination Test - R.S.A.T. and Complement Fixation C.F.). All the samples were screened for toxoplasmosis and rickettsiosis (I.F.A.T.) and leptospirosis (Microscopic Agglutination -M.A.). Positive results for toxoplasmosis were found in some samples (one fox and two deer) and for leptospirosis in others (two foxes). Negative results were found for neosporosis in the Beech martin and in the foxes, in contrast to the high occurrence of this infectious disease in domestic dogs from the same area.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl): 265- 267

## 1. Introduzione

Molti degli agenti infettivi riscontrabili nella fauna selvatica a vita libera sono responsabili di patologie negli animali domestici (Hartskeed & Terpstra, 1996; Simpson, 1997; Bettini, 1980; Buxton, 1997). Il ruolo epidemiologico degli animali selvatici a vita libera può variare da quello di *reservoirs* (senza manifestazioni cliniche) a quello di ospite (con sintomatologia conclamata), in relazione alla virulenza dell'agente patogeno, alle difese immunitarie dell'ospite ed all'habitat in cui l'interazione ospite-agente eziologico si realizza. Nel presente studio, abbiamo effettuato un'indagine sierologica su animali selvatici provenienti da aree protette o suburbane del territorio in esame allo scopo di definire il ruolo epidemiologico della fauna selvatica a vita libera nei confronti delle patologie più frequentemente riscontrate negli animali domestici in Campania (Guarino *et al.*, 1998; Baldi *et al.*, 1998). Considerata l'esiguità dei campioni esaminati riteniamo i risultati ottenuti con il presente

lavoro preliminari e di indirizzo ad indagini più approfondite, peraltro già in corso.

## 2. Metodi

Si è proceduto alla raccolta di sieri a partire da carcasse di animali raccolti lungo il ciglio di strade (quattro volpi ed una faina) o provenienti da aree protette (due cervi); altri campioni (tre daini) sono invece stati prelevati da soggetti anestetizzati in occasioni di spostamenti effettuati per la gestione di tali aree o d'interventi chirurgici (una volpe ed una faina) realizzati ai fini di recupero. In particolare: i tre daini provengono dall'Oasi del W.W.F. sita a nord di Caserta, dalla stessa area provengono anche una delle due faine e due delle cinque volpi, una faina e due volpi provengono dall'area suburbana di Caserta nord ed infine due cervi ed una volpe provengono dall'area vesuviana. I suddetti sieri sono stati testati nei confronti dei seguenti agenti infettanti: *Brucella abortus*, *Mycobacterium paratuberculosis*, *Leishmania infantum*, *Chlamydia psittacii*, *Leptospira interro-*

*gans*, *Toxoplasma gondii*, *Rickettsia conorii*, *Neospora caninum*.

Per la brucellosi i sieri di due cervi e tre daini sono stati sottoposti a reazione di Sieroagglutinazione Rapida S.A.R. con antigene Rosa Bengala ed a Fissazione del Complemento (F.d.C.) con antigene standard di *Brucella abortus*. Gli stessi sieri sono stati sottoposti ad un E.L.I.S.A. indiretto (IDEXX) per la ricerca di anticorpi anti- *Mycobacterium paratuberculosis*, con sistema rilevatore rappresentato dalla proteina G perossidasi coniugata, ad alta affinità per le immunoglobuline. Per la Leishmaniosi, i sieri di cinque volpi e due faine sono stati sottoposti a test di Immunofluorescenza Indiretta (I.F.I.), con l'utilizzazione di una metodica standardizzata dall'I.S.S. con *Leishmania infantum* coltivato in sede da un ceppo standard ed anticorpi anti-cane fluoresceinati. Per la Chlamydiosi è stato utilizzato un E.L.I.S.A. diretto (RIDASCREEN) con sistema rilevatore costituito da anticorpi monoclonali coniugati con perossidasi e sono stati testati sia i sieri dei carnivori sia quelli dei ruminanti. Per la Leptosirosi il test di Microagglutinazione Diretta (M.A.T.) è stato eseguito per nove sierovarianti (*L. icterohaemorrhagiae*, *L. canicola*, *L. bratislava*, *L. copenhagen*, *L. hardio*, *L. tarassovi*, *L. pomona*, *L. saxkoebing*, *L. grippotifosa*). Per *Toxoplasma gondii*, *Rickettsia conorii*, *Neospora caninum* è stato utilizzato un test di I.F.I. con antigeni della bio Mérieux per i primi due e della VMRD, Inc. per la *Neospora*, con un sistema rilevatore costituito dai seguenti anticorpi fluoresceinati: anti IgG di cane per i carnivori; anti-IgG bovine per i cervi, anti-IgG ovine e caprine per i daini, per le due faine sono state utilizzate anti IgG di cane e di gatto.

### 3. Risultati

Gli esami per *Brucella abortus*, *Mycobacterium paratuberculosis*, *Chlamydia psittacii* sono risultati negativi sia i tre daini sia i due cervi. Anche per *Leptospira* sono risultati negativi tutti i ruminanti. Sono risultate invece positive due volpi: una con titolo 1:200 per la variante *saxkoebing*, l'altra con titolo di 1:400 per la *icterohaemorrhagiae*, entrambe provenienti da aree periurbane e non protette della provincia di Caserta. Sierologicamente indenni da tale patologia sono risultate le volpi provenienti dall'area protetta Casertana (Oasi WWF).

Le ricerche per *Neospora caninum* hanno rilevato una sola positività con titolo 1:100 in un cervo femmina il cui decesso è stato tra l'altro ricondotto ad aborto con feto a termine ritenu-

to. La positività per *Toxoplasma gondii* è risultata per entrambi i cervi (titolo 1:40 e 1:80), in una volpe (titolo 1:160) ed in una faina (titolo 1:160 con le IgG anti\_cane ed 1:80 con le IgG anti\_gatto), tutti provenienti da aree periurbane non protette. Tutti i carnivori sono risultati negativi a *Leishmania infantum*. Gli esami per *Rickettsia conorii* sono risultati: negativi per i cervi; positivi per i daini quando si è ricorso ad anti-IgG caprine; positivi per due volpi con titolo rispettivamente di 1:80 (soggetto di origine periurbana) ed 1:40 (soggetto proveniente dall'area protetta Oasi W.W.F.); positivo 1:40 per una faina (soggetto proveniente dall'area protetta Oasi WWF).

### 4. Discussione

Considerata la diffusione di *Brucella abortus*, *Mycobacterium paratuberculosis*, *Chlamydia psittacii*, nelle specie di interesse zootecnico in Campania, la sieronegatività di tutti i ruminanti esaminati ci farebbe ipotizzare che l'habitat selvatico indagato sia da preservare dai pascoli piuttosto che da temere per una funzione di *reservoir*. Le stesse considerazioni si possono ritenere valide anche per la Leptosirosi poiché sono risultate positive solo le due volpi provenienti dalla periferia urbana. La sieropositività per *Toxoplasma gondii* può essere imputata alle colonie feline la cui presenza comprometteva quindi lo stato sanitario delle specie selvatiche indagate.

Considerata la diffusione di *Neospora caninum* in cani e bovini sul territorio delle province indagate da Guarino et al. (1998) e Baldi (1998), la sieronegatività riscontrata nelle volpi è a nostro avviso un dato interessante nell'ottica della definizione del ruolo epidemiologico di questa specie selvatica: i nostri dati, sia pure esigui e pertanto non definitivamente significativi, sembrano infatti indicare l'estraneità di questo mammifero nella diffusione della patologia in esame, estraneità peraltro già espressa in recenti e più esaurienti indagini sierologiche (Simpson et al., 1997; Buxton et al., 1997). Ribadiamo invece i risultati di un nostro precedente studio (Baldi et al, 1998) che indica una più elevata sieroprevalenza verso *Neospora caninum* nella popolazione canina positiva a *Leishmania infantum* indagata nell'area vesuviana.

Sebbene tutti i carnivori siano risultati negativi per *Leishmania infantum*, la giovane età media (un anno circa) dei soggetti esaminati ci fa supporre che si possa trattare di individui che non avevano ancora avuto il tempo di contrar-

re la malattia. La diffusa presenza di sieropositività per *Rickettsia conorii* (daino, volpe, faina) esprime la reale circolazione dell'agente eziologico sul territorio campano, peraltro già chiaramente dimostrata nella popolazione canina (sieropositività ad I.F.I., dati personali non pubblicati) e nell'uomo (Febbre Bottonosa del Mediterraneo).

In conclusione, nei limiti della loro esiguità numerica, i dati finora esposti ci incoraggiano a continuare lo studio delle patologie trasmesse da zecche e ad effettuare una stima aggiornata delle popolazioni ixodidologiche presenti sul territorio, non trascurando l'opportunità di approfondimenti formativi ed informativi nel settore dell'educazione sanitaria ed ambientale.

### 5. Ringraziamenti

Si ringraziano per la collaborazione la Sig.ra M. D'Amore, tecnico di laboratorio presso l'I.Z.S. del Mezzogiorno ed il personale dell'Oasi di S.Silvestro del W.W.F. di Caserta con particolare riferimento al Sig.G.Tammaro.

### Bibliografia

- BALDI L., MIZZONI V., CASAPULLA R., SIRAGUSA C., VENEZIANO V., RINALDI L. & CRINGOLI G. (1998) - Antibodies against *Neospora caninum* in dogs from the vesuvius area Southern Italy. *Parassitologia*, 40:6.
- BETTINI S., POZIO E. & GRADONI L. (1980) - Leishmaniasis in Tuscany (Italy) : (II) Leishmania from wild Rodentia and Carnivora in a human and canine leishmaniasis focus. *Transaction of the R. Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 74:77-83.
- BUXTON D., MALEY S.W., PASTORET P.P., BROCHIER & INNES E.A. (1997) - Examination of Red foxes (*Vulpes vulpes*) from Belgium for antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Veterinary Record*, 141: 308-309.
- HARTSKEED R.A. & TERPSTRA W.J. (1996) - Leptospirosis in wild animals. *Veterinary Quarterly*, 18 : 149-150.
- GUARINO A., FUSCO G., LUINI M., VENEZIANO V., RINALDI L. & CRINGOLI G. (1998) - Anticorpi verso *Neospora caninum* in bovini del sud Italia. *Atti LII Convegno Nazionale S.I.S.Vet.*
- SIMPSON V.R., MONIES R.J., RILEY P. & CROMEY D.S. (1997) - Foxes and neosporosis. *Veterinary Record*, 141: 503



# MONITORAGGIO SIEROLOGICO NEL CAPRIOLO NELLA ZONA DELL'ALTOPIANO DI ASIAGO (VI)

Stancampiano L.\*, Nardelli S.\*, Carnieletto P.\*, Turilli C.\*, Maragno M.\*\*\*, Cantele Carlo M.\*\*

\* Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie - Via Romea 14/A - 35020 Legnaro (PD);

\*\* AULSS 3 Bassano del Grappa (VI)

**Riassunto** - Sono stati esaminati 139 campioni di siero ematico di Capriolo, raccolti durante la stagione venatoria 1995-'96 nelle 15 riserve o aziende faunistiche venatorie presenti nel territorio dell'AULSS 3 della provincia di Vicenza. In particolare è stata eseguita la ricerca di anticorpi per afta, IBR e BVD, utilizzando una metodica ELISA di tipo competitivo, tale quindi da non necessitare di anticorpi specifici anti-cervidi; per febbre Q, utilizzando la fissazione del complemento; per leptospirosi, utilizzando la microagglutinazione; per borreliosi, utilizzando l'immunofluorescenza. Vista la mancanza di dati bibliografici riguardanti il Capriolo, come soglia di positività sono state considerate le soglie normalmente utilizzate per i ruminanti domestici. Nessuno dei campioni esaminati è risultato positivo per afta, leptospirosi e febbre Q. La prevalenza sierologica è risultata pari allo 0.7% sia per IBR sia per BVD (un solo campione positivo su 139), mentre la prevalenza più elevata (4.5%) è stata riscontrata per borreliosi, con 5 campioni positivi, su 110 idonei all'immunofluorescenza. Alcuni sieri hanno mostrato titoli anticorpali rilevabili, seppure sotto la soglia di positività, per tutti gli esami effettuati eccetto che per afta. Le positività sierologiche per borreliosi appaiono positivamente correlate al peso e all'età degli animali (correlazione per ranghi di Spearman,  $p < 0.05$ ) e distribuite in maniera disomogenea nelle diverse riserve ( $\chi^2$ :  $p < 0.05$ ). Gli animali con titoli anticorpali rilevabili, seppure sotto soglia, per leptospirosi, mostrano una tendenza statisticamente significativa ad avere anticorpi per borrelia ( $\chi^2$ :  $p < 0.01$ ).

**Abstract** - Roe deer *Capreolus capreolus* serological monitoring in the "Altopiano di Asiago" (Northern Italy) area. A total of 139 sera collected in 1995-1996 from Roe deer hunted in 15 hunting reserves of the AULSS 3 area of Vicenza province have been examined. Serological tests were performed for foot and mouth disease, IBR and BVD using competitive ELISA (which do not require anti-deer specific antibodies). Serological tests were also performed for Q-fever, using complement fixation test, for leptospirosis, using microagglutination test and for Lyme disease, using immunofluorescent test. As cut-off values were not available in literature for Roe deer, the ones applied to domestic ruminants have been used. No sera resulted positive for foot and mouth disease, leptospirosis and Q-fever. Antibody prevalence was 0.7% both for IBR and for BVD (1 sample out of 139), while Lyme disease showed the highest prevalence (4.5%) with 5 positive samples out of 110. Some sera have shown detectable antibodies, even though these were under cut-off values for all diseases except for foot and mouth disease. Lyme disease serological titres appear to be positively correlated with animal age and body weight (Spearman rank correlation,  $p < 0.05$ ) and unequally distributed in the 15 hunting reserves ( $\chi^2$ :  $p < 0.05$ ). Roe deer with detectable, although under cut-off, anti-leptospira titres have, more frequently than expected, antibodies against Lyme disease ( $\chi^2$ :  $p < 0.01$ ). In contrast to the high occurrence of this infectious disease in domestic dogs from the same area.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 269- 273

## 1. Introduzione

Che gli ungulati selvatici possano svolgere un ruolo rilevante nell'epidemiologia di alcune infezioni comuni ai domestici ed all'uomo è oramai ampiamente riconosciuto, così come che i ruminanti domestici, al pascolo, possano rappresentare un fattore di rischio sanitario per le popolazioni di fauna selvatica. Malgrado questa consapevolezza, i dati relativi alla reale circolazione di microparassiti nelle popolazioni di animali selvatici sono piuttosto scarsi e frammentari, anche per la difficoltà e la mancanza di criteri chiaramente e tradizionalmente definiti in ambito di ecopatologia. E' stata quindi

organizzata una indagine sierologica nel Capriolo per la ricerca di anticorpi contro alcuni agenti eziologici responsabili di patologie tipiche dei domestici, tra cui alcune zoonosi. In particolare la ricerca di anticorpi contro febbre Q è stata effettuata in quanto nel 1993, proprio in provincia di Vicenza, si è avuto un focolaio umano di febbre Q causato dal passaggio di greggi transumanti positive (Manfredi Selvaggi *et al.*, 1996).

## 2. Metodi

I sieri sono stati raccolti durante la stagione venatoria 1995-'96 nell'ambito di un piano di



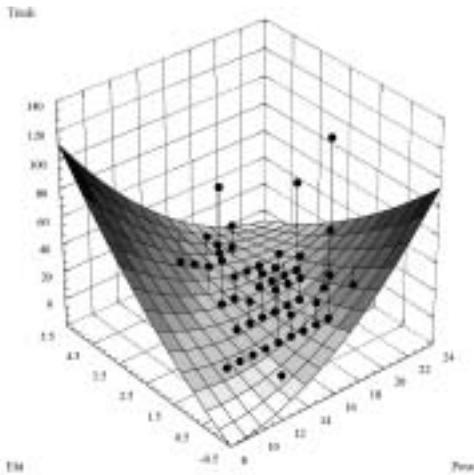


Fig. 2 - Distribuzione dei titoli anticorpali per borreliosi in relazione al peso ed all'età dei caprioli. La superficie interpola i dati con una funzione polinomiale di secondo ordine.

titoli anticorpali rilevabili, seppure sotto soglia, per *Leptospira*, e le sieropositività per *Borrelia*, sia considerando i sieri sotto soglia come negativi (tabella 2x2) sia considerandoli separatamente (tabella 3x2) (Tab. 2).

La distribuzione dei caprioli esaminati per classi di età è rappresentata in Fig. 3.

### 3. Discussione

#### 3.1. Tecniche utilizzate

La ricerca di anticorpi in specie non convenzionali, quali in particolare i cervidi, presenta alcuni problemi di ordine tecnico e interpreta-

tivo dovuti, in parte, alla mancanza di sieri di controllo positivi e negativi con cui confermare la validità dei test. L'applicazione di metodiche ELISA di tipo competitivo se da un lato offre il grosso vantaggio di non dovere ricorrere ad anticorpi marcati anti-specie, dall'altro pone il problema se gli anticorpi prodotti dal Capriolo competano effettivamente con quelli utilizzati nella prova ELISA. In linea teorica essendo questi ultimi di origine cunicola (afta) o murina (IBR-BVD), è possibile che vadano a legarsi su epitopi non riconosciuti come tali dal sistema immunitario del Capriolo. In tale caso la sensibilità della prova ELISA sarebbe talmente bassa da pregiudicarne l'utilizzo. Tale rischio va particolarmente considerato per prove ELISA nelle quali l'anticorpo competitivo è monoclonale (IBR-BVD), e quindi si lega su uno specifico epitopo, mentre è meno probabile per reazioni ELISA (afta) basate su anticorpi policlonali.

Comunque, pur in assenza di dati ottenuti su cervidi sperimentalmente immunizzati, è ragionevole ritenere che, per almeno due delle tre prove ELISA utilizzate (afta e BVD), l'evenienza di una non competizione sia poco verosimile. Infatti l'ELISA utilizzata per l'afta evidenzia agevolmente anticorpi di un ampio spettro di specie recettive, quali Bovino, Bufalo, Suino, piccoli ruminanti. L'ELISA BVD è indirizzata verso una proteina, la p80-120, espressa da tutti i pestivirus e la cui struttura antigenica è altamente conservata tra essi. I dati disponibili per l'ELISA IBR gE sono meno indicativi, tuttavia tale reazione risulta nettamente positiva in capre infettate da *Herpesvirus* della capra, anti-

Tab. 1 - Risultati degli esami sierologici.

	positivi	prevalenza	dubbi/sotto soglia	negativi	non adatti	totale esaminati
Afta	0	0%	0	139	0	139
IBR	1	0.7%	1	137	0	139
BVD	1	0.7%	3	135	0	139
Febbre Q	0	0%	2	136	1	138
Leptospirosi	0	0%	10	129	0	139
Borreliosi	5	4.5%	28	77	29	110

Tab. 2 - Tabella di contingenza: risultati dei test per leptospirosi e borreliosi.

	<i>Leptospira</i> negativi	<i>Leptospira</i> sotto soglia	totale
<i>Borrelia</i> negativi	74	3	77
<i>Borrelia</i> sotto soglia	24	4	28
<i>Borrelia</i> positivi	2	3	5
totale	100	10	110

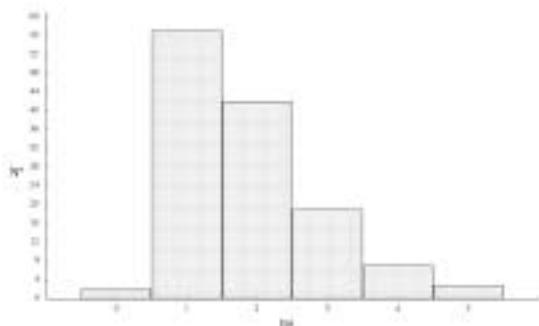


Fig. 3 - Distribuzione dei caprioli esaminati per classi di età.

genicamente imparentato con IBR. Piuttosto, è da considerare come vi siano numerosi *Herpesvirus* correlati antigenicamente al BHV-1, responsabile dell'IBR (Lyaku et al., 1992) tra cui uno tipico dei cervidi. Analogamente vi sono numerosi pestivirus correlati antigenicamente col BVDV, tra cui un pestivirus del cervo, (Paton, 1995) e uno isolato nel Capriolo (Frölich & Hofmann 1995). Ciò infatti fa sorgere il problema se gli anticorpi eventualmente rilevati nel Capriolo siano prodotti in seguito a infezioni con virus tipici di specie selvatiche o con virus tipici dei domestici, ed in quest'ultimo caso, quali.

Per quanto riguarda le metodiche sierologiche non-ELISA utilizzate, si può affermare con sufficiente tranquillità che non vi siano problemi di specificità di risposta verso particolari siti antigenici. Infatti per tutte e tre le prove viene utilizzato come antigene un derivato batterico bruto (febbre Q) o addirittura l'intero batterio, vivo (*Leptospira*) o fissato (*Borrelia*). Persistono comunque numerosi interrogativi. Ad esempio, persiste il dubbio che i caprioli producano anticorpi fissanti il complemento in risposta all'eventuale infezione da *Coxiella burnetii* e che l'uso di anticorpi coniugati anti-capra per la ricerca di anticorpi contro *Borrelia burgdorferi*, per quanto precedentemente testato (la presenza di sieri positivi, tra l'altro, conferma la sua utilizzabilità nel Capriolo) possa avere determinato comunque un abbassamento della sensibilità del test.

### 3.2. Epidemiologia

Per quanto riguarda l'afta, la negatività di tutti i sieri era prevedibile sulla base della assenza di questa infezione nei domestici e della sua elevatissima infettività. Il dato comunque conferma l'assenza di circolazione di questo virus in popolazioni di ungulati selvatici. La loro pre-

senza sul territorio, essendo animali recettivi, dovrà essere considerata in caso di focolaio nei domestici, ma non rappresenta, in quanto tale, un fattore di rischio per i domestici stessi.

Interessante è la presenza di un solo animale positivo per BVD e di uno solo per IBR. Sembrerebbe che né questi virus né virus ad essi correlati circolino tra gli ungulati presenti nell'ambito selvatico considerato. Ciò è particolarmente vero per l'IBR, virus respiratorio altamente diffusibile, per il quale non sono quindi ipotizzabili prevalenze così scarse. Lo stesso virus, tra l'altro, è poco presente negli allevamenti bovini di piccole dimensioni del Veneto (CREV, dati non pubblicati), gli unici che possono avere contatti, tramite il pascolo, con ungulati selvatici. E' quindi molto probabile che il campione positivo sia in realtà un falso positivo. La diffusione più lenta dell'infezione da BVD nei ruminanti domestici e la sua presenza anche in bovini all'alpeggio (mancano però dati relativi alla AULSS considerata) rende più problematica l'interpretazione dei risultati riguardanti questa infezione. Tra l'altro, in alcune fasi o tipi di infezione, gli animali possono essere sieronegativi (immunotolleranti; fase iniziale dell'infezione acuta). Ciò è stato osservato anche nel Capriolo, nel quale due pestivirus correlati al BVD sono stati isolati da animali sieronegativi (Frölich & Hofmann, 1995). Anche se abbastanza improbabile, non sembra dunque possibile escludere totalmente la circolazione di pestivirus nella popolazione di Capriolo. Un'attiva trasmissione tra bovino e Capriolo sembra comunque altamente improbabile, se non in maniera sporadica. Quanto osservato sarebbe in accordo con Frölich (1995) che non ha rilevato differenze di sieroprevalenze per BVD in cervidi che provenivano da zone con diverse densità di Bovini.

I risultati del monitoraggio suggeriscono che *Leptospira interrogans* non circoli all'interno della popolazione di Capriolo esaminata. In Italia anche altri autori hanno rilevato l'assenza di sieropositivi in diversi ungulati selvatici (Gennero et al., 1993). Non è chiaro se ciò accada per l'assenza di leptospirosi nell'area in esame o per la mancanza di legami eco-epidemiologici tra roditori e Capriolo. In Veneto la sieroprevalenza sembra estremamente bassa anche nei ruminanti domestici (IZS delle Venezie, Relazione tecnica 1996). I titoli sotto soglia per leptospirosi sono statisticamente correlati alla presenza di titoli rilevabili per borreliosi, probabilmente in relazione al fatto che entrambi questi agenti eziologici sono spiroche-

te, malgrado le scarse affinità genetiche tra le due (Hyde & Johnson, 1984). Poiché nessuno dei sieri esaminati è risultato positivo per leptospirosi, la specificità della microagglutinazione per la diagnosi di infezione da *Leptospira* appare comunque confermata anche nel Capriolo.

Vista la negatività per febbre Q di tutti i sieri esaminati non sembra essersi verificato il possibile rischio di trasmissione dell'infezione da *Coxiella burnetii* dalle greggi in transito nella provincia di Vicenza alle popolazioni di Capriolo presenti sul territorio. Dopo il focolaio umano del 1993, un monitoraggio sierologico triennale sulle greggi ha evidenziato che neanche la popolazione di pecore presenti sul territorio è stata in grado di mantenere l'infezione (Manca et al., 1998). E' possibile pertanto che nella zona non vi siano le condizioni ecologiche necessarie al mantenimento del ciclo di questa infezione. Solo la borreliosi, infezione tipicamente silvestre, sembra circolare in questa popolazione. Le differenze di prevalenza tra le diverse riserve di provenienza confermano la tendenza di questa infezione alla diffusione a macchia di leopardo, probabilmente in relazione a particolari situazioni ecologiche che permettano l'estrinsecarsi del ciclo, relativamente complesso, tra zecche e roditori. La correlazione rilevata con l'età (e il peso) dei caprioli dimostrerebbe la stabile presenza della *Borrelia* nell'habitat del Capriolo, anche se la popolazione esaminata è piuttosto giovane, come si può vedere anche dall'età dei caprioli abbattuti ed esaminati (Fig. 3).

#### 4. Conclusioni

Malgrado la popolazione di Capriolo dell'AULSS 3 sia piuttosto consistente, la circolazione dei microparassiti presi in esame appare estremamente scarsa, ad esclusione della borreliosi, infezione tipicamente silvestre. Tale osservazione potrebbe essere dovuta a:

*i.* assenza di tali infezioni nei domestici (questo è sicuramente il caso dell'afra e probabilmente di IBR); *ii.* scarsa recettività del Capriolo alle infezioni del Bovino prese in considerazione in questo lavoro; *iii.* mancanza di un'interfaccia eco-epidemiologica sufficiente alla trasmissione delle infezioni tra animali domestici e Capriolo.

#### 5. Ringraziamenti

Un grazie particolare ad Antonia Ricci per la revisione del testo e la consulenza linguistica, a Marta Pasotto per la collaborazione impagabile nella fase organizzativa e a Licia Ravarotto per l'aiuto lucido e disinteressato offerto durante la rifinitura del lavoro.

#### Bibliografia

- A. A. V.V. (1982) - *Guidelines for the control of Leptospirosis*. WHO.
- A. A. V.V. (1992) - *Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines*. O.I.E., Parigi.
- FRÖLICH K. & HOFMANN M. (1995) - Isolation of Bovine Viral Diarrhea Virus-like Pestiviruses from Roe deer (*Capreolus capreolus*). *Journal of Wildlife Diseases*, 31: 243-246.
- GENNERO M.S., MENEGUZZI P.G., MANDOLA M.L., MASOERO L., DE MENEGHI D. & ROSSI L. (1993) - Indagini sierologiche su ruminanti selvatici in Piemonte. *Atti S.I.S.Vet.*, 47: 979-983.
- HAMBLIN C., BARNETT J.T.R. & HEDGER R.S. (1986) - A new enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus. I. Development and method of ELISA. *Journal of Immunological Methods*, 93: 115-121.
- HYDE F.W. & JOHNSON R.C. (1984) - Genetic relationship of Lyme disease spirochetes to *Borrelia*, *Treponema*, and *Leptospira* spp. *Journal of Clinical Microbiology*, 20: 151-154.
- LYAKU J.R.S., NETTLETON P.F. & MARDSEN H. (1992) - A comparison of serological relationships among five ruminant alphaherpesviruses by ELISA. *Archives of Virology*, 124: 333-341.
- MANCA G., MARTINI M., DALLA POZZA M., TURILLI C. & MARANGON S. (In stampa) - Q fever in the sheep population of northern Italy: a serological survey. *Proceeding of the Annual Conference of Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine. Ennis (Ireland) 25-27 March 1998*.
- MANFREDI SELVAGGI T., REZZA G., SCAGNELLI M., RIGOLI R., RASSU M., DE LALLA F., PELLIZZER G.P., TRAMARIN A., BETTINI C., ZAMPIERI L., BELLONI M., DALLA POZZA E., MARANGON S., MARCHIORETTO N., TOGNI G., GIACOBBO M., TODESCATO A. & BINKIN N. (1996) - Investigation of a Q-fever outbreak in Northern Italy. *European Journal of Epidemiology*, 12: 403-408.
- PATON D.J. (1995) - Pestivirus diversity. *J. COMP. PATH.*, 112: 215-236.
- SIEGEL S. (1980) - *Statistica non parametrica*. Organizzazioni speciali, Firenze.



# INDAGINE SULL'ELMINTOFAUNA GASTRO-INTESTINALE DEL CAPRIOLO NELL'APPENNINO SAVONESE

Tavan N.<sup>o</sup>, Ferroglio E.\*, Cicerale M\*, Rossi L.\*

<sup>o</sup> Veterinario libero professionista

\* Dipartimento di Produzioni Animali, Epidemiologia ed Ecologia, Via L. Da Vinci, 44 - 10095 Grugliasco (TO), Italy

**Riassunto** - È stata studiata l'elmintofauna gastro-intestinale di 59 caprioli provenienti dal comprensorio della Val Bormida savonese. Le specie *Spiculoptera spiculoptera* e *Ostertagia leptospicularis*, coi rispettivi morfotipi "minori" *S. mathevossiani* e *O. kolchida*, sono risultate dominanti a livello abomasale. *Nematodirus europaeus* è stata l'unica specie raccolta nell'intestino tenue. Il reperto di specie il cui reservoir è costituito da ruminanti domestici è parso occasionale. Rispetto a indagini condotte su altre popolazioni italiane di capriolo, l'abbondanza dei nematodi è risultata elevata a livello abomasale ma molto contenuta a livello intestinale. Sono state evidenziate associazioni negative tra l'abbondanza dei nematodi abomasali e alcuni parametri indicativi della condizione corporale dell'ospite.

**Abstract** - Gastro-intestinal nematodes of Roe deer *Capreolus capreolus* in the Bormida Valley (Northern Italy). Fifty-nine roe deer from the Val Bormida, province of Savona, were investigated for presence of gastro-intestinal nematodes. *Spiculoptera spiculoptera* and *Ostertagia leptospicularis*, with their "minor" morphs *S. mathevossiani* e *O. kolchida* were the abomasal dominant species, whereas *Nematodirus europaeus* was the only species found in the small intestine. Species whose reservoir is represented by domestic ruminants were collected occasionally. Compared with surveys on other roe deer populations in Italy, nematodes' abundance was high in the abomasum and very low in the small intestine. Negative associations were found between worm abundance and selected condition parameters of the host.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 275- 278

## 1. Introduzione

Le indagini sull'elmintofauna di caprioli che vivono in territorio italiano sono relativamente numerose (Traldi *et al.*, 1986; Canestri-Trotti *et al.*, 1988; Genchi *et al.*, 1988; 1989; Poglayen *et al.*, 1990; Genchi *et al.*, 1992; Rizzoli *et al.*, 1993; Zaffaroni *et al.*, 1995; Poglayen *et al.*, 1996; Zaffaroni *et al.*, 1996; Rossi *et al.*, 1997). Per ragioni contingenti, la maggior parte di esse fa riferimento a nuclei presenti sulle Alpi mentre poco si sa delle popolazioni appenniniche di questo ruminante, pur localmente assai dense (Canestri-Trotti *et al.*, 1988; Poglayen *et al.*, 1996). Ci è dunque parso interessante: i. descrivere quali-quantitativamente l'elmintofauna gastro-intestinale di caprioli della provincia di Savona; ii. valutare le interazioni con l'elmintofauna di ovi-caprini simpatici; iii. cercare eventuali associazioni tra l'abbondanza degli elminti e la condizione corporale degli ospiti.

## 2. Materiali e metodi

### 2.1. Area di studio

La Val Bormida, da cui provengono gli animali campionati, si estende su circa 53.000 ha nella parte nord-occidentale della provincia di Savona. L'ambiente varia da collinare a basso montano, con altitudine compresa fra 300 e 1300 m s.l.m. Le precipitazioni - 1200 mm/an-

no in media - sono concentrate in primavera ed autunno. Il clima, caratterizzato da discrete escursioni termiche stagionali e medie annue comprese fra 6 e 15°C, è di transizione tra quello marittimo e quello continentale. La maggior parte del territorio (65% circa) è coperta da boschi di latifoglie mesofile, con dominanza di cedui di castagno frequentemente interrotti da radure o coltivi. La popolazione di caprioli studiata origina da esemplari provenienti dalla Slovenia, reintrodotti a partire dal 1956 nel Comune di Cairo Montenotte. Attualmente la specie ha ricolonizzato le porzioni settentrionale e occidentale della provincia di Savona e le zone confinanti delle province di Alessandria e Cuneo, raggiungendo in diversi ambiti densità superiori a 30 capi/100 ha (Meneguz e Rossi, dati non pubbl.). Nell'area di studio si contano circa 6.000 capi ovi-caprini allevati in piccole greggi secondo criteri tradizionali, in assenza di transumanza e di pascolo vagante. Non sono presenti altri ruminanti selvatici, fatta eccezione per alcuni nuclei isolati di daino (*Cervus dama*).

### 2.2. Raccolta dei dati

L'indagine è stata effettuata fra il 1996 e il 1998 su 59 caprioli, di cui 51 investiti da auto e 8 prelevati durante la stagione venatoria. Le carcasce, generalmente recuperate dagli agenti

di vigilanza venatoria della provincia di Savona, venivano congelate fino al momento della necropsia. I caprioli sono stati inizialmente attribuiti a 4 classi di età - piccoli (primo anno di vita), yearlings (secondo anno di vita), adulti (2-5 anni) e vecchi (>6 anni) - in base all'eruzione dei denti e al consumo delle tavole dentarie (Raesfeld *et al.*, 1986). Nell'analisi dei dati, tuttavia, le classi yearlings, adulti e vecchi sono state riunite in un'unica classe (adulti s.l.). Per ogni animale si sono registrati dati biometrici (peso completamente eviscerato, lunghezza della mandibola, lunghezza del piede) e dati riguardanti la condizione corporale: l'Indice di Grasso Renale o KFI (Riney, 1955), una valutazione semi-quantitativa dei depositi di grasso a livello di omento e pericardio (assenti, presenti, abbondanti), una valutazione della consistenza del midollo osseo tibiale (solido, semisolido, gelatinoso).

Il tratto digerente è stato processato secondo metodiche standard. I parassiti sono stati classificati in base alle chiavi riportate da Skrjabin *et al.* (1954), Drozd (1966), Barth (1972), Jansen (1972), Rossi (1983) e Lichtenfels & Hoberg (1993). Per i principali indici epidemiologici - prevalenza (P), intensità (I), abbondanza (A), abbondanza relativa (AR) - si è fatto riferimento alle definizioni in Margolis *et al.* (1982). I valori di abbondanza relativi alle specie polimorfiche *Spiculoptera spiculoptera/mathevossiani* e *Ostertagia leptospicularis/kolchida* sono stati sommati ai fini dell'analisi dei dati.

L'analisi statistica dei dati è stata effettuata con metodi non parametrici (test di Mann-Whitney, test di Kruskal-Wallis, Spearman rank correlation coefficient) e la significatività delle correlazioni è stata fissata a  $p < 0.05$ .

### 3. Risultati e discussione

L'elmintofauna gastro-intestinale dei caprioli dell'Appennino Savonese (Tab.1) si rivela povera in specie (9 contro le 12-22 segnalate nelle altre indagini condotte in Italia). Questo potrebbe essere imputabile all'isolamento della popolazione studiata e alla scarsa possibilità, che ne consegue, di acquisire specie elmintiche con *reservoir* in altri ruminanti selvatici o domestici. Le 3 specie dominanti, *S.spiculoptera/mathevossiani*, *O. leptospicularis/kolchida* e *Nematodirus europaeus*, sono tipiche dei cervidi e del Capriolo in particolare. Appare invece trascurabile (AR=1.2) la presenza di specie tipiche dei *Caprinae* o più generaliste quanto a spettro d'ospite, come *H.contortus*, *O.circumcincta*, *T.capricola* e *T.vitrinus*.

Mentre l'elmintofauna intestinale appare numericamente ridotta (A=21; Mediana conteggi=0), quella abomasale è fra le più abbondanti segnalate nel panorama italiano (A=1869; Mediana conteggi=790). Questa palese discordanza fa ritenere che l'abbondanza degli elminti gastro-intestinali sia più influenzata da fattori estrinseci alla popolazione studiata (es. dal clima) che non da fattori intrinseci quali la densità, pur elevata sull'intera area di studio.

L'abbondanza di 3 delle 4 specie elmintiche con maggior prevalenza presenta fluttuazioni stagionali (Tab. 2). Queste sono statisticamente significative nel caso di *N. europaeus* e di *H.contortus* ( $p < 0.001$ ) e tendenziali nel caso di *S. spiculoptera/mathevossiani* ( $p = 0.060$ ). I valori massimi si registrano in primavera per *N. europaeus* e in estate per le altre due specie. Nessuna stagionalità è stata rilevata nel caso di *O. leptospicularis/kolchida* ( $p = 0.729$ ). In una nostra indagine precedente su 223 caprioli di

**Tab. 1** - Specie elmintiche reperite nel tratto gastro-intestinale di 59 caprioli provenienti dalla Val Bormida (Savona) e loro principali indici epidemiologici. Legenda: P=prevalenza, A=abbondanza, AR=abbondanza relativa.

ABOMASO				
SPECIE	P	A	RANGE	AR
<i>Haemonchus contortus</i>	15	19	28-368	1.0
<i>Ostertagia circumcincta</i>	3	1	35-46	0.07
<i>Ostertagia kolchida</i>	83	356	21-3662	18.9
<i>Ostertagia leptospicularis</i>	91	936	40-9200	49.6
<i>Spiculoptera spiculoptera</i>	84	499	24-5520	26.4
<i>Spiculoptera mathevossiani</i>	49	75	24-1104	4.0
<i>Trichostrongylus capricola</i>	2	1	33	0.04
<i>Trichostrongylus vitrinus</i>	3	1	28-38	0.06
INTESTINO TENUE				
<i>Nematodirus europaeus</i>	24	21	10-290	100

**Tab. 2** - Dinamica stagionale dei principali nematodi gastro-intestinali in caprioli adulti dell'Appennino savonese (test di Kruskal-Wallis; n.d. casi in parentesi).

Specie	Abbondanza				P	H
	INV (10)	PRI (11)	EST (5)	AUT (10)		
<i>H.contortus</i>	0	8.4	87.8	0	<0.001	243.17
<i>O.leptospicularis</i>	1381.7	1313.8	1297.0	811.2	0.729	2.19
<i>/kolkida</i>						
<i>S.spiculoptera</i>	464.9	744.7	817.0	170.6	0.060	7.98
<i>/mathevossiani</i>						
<i>N.europaeus</i>	10.3	25.4	16.3	3.4	<0.001	63.40

**Tab. 3** - Relazioni significative ( $P<0.05$ ) o tendenziali ( $0.05<P<0.1$ ) tra l'abbondanza degli elminti abomasali e la condizione corporale di caprioli della Val Bormida, Savona (test di Mann-Whitney, test di Kruskal-Wallis). L'entità di 3 diversi depositi di grasso è valutata con punteggio da 0 (grasso omentale o pericardico assente; midollo tibiale gelatinoso) a 2 (grasso omentale o pericardico abbondante; midollo tibiale solido). Numero dei campioni in parentesi.

GRASSO OMENTALE		PUNTEGGIO DEPOSITI DI GRASSO			
CLASSE	P	H/T	0	1	2
Adulti dei due sessi	.002	12.88	1925 (18)	1035 (10)	390 (7)
Maschi Adulti	.076	65.62	1395 (14)	680 (8)	
GRASSO PERICARDICO					
Adulti dei due sessi	.005	10.78	2660 (9)	1110 (8)	560 (19)
Maschi Adulti	.066	5.45	4400 (7)	855 (6)	700 (11)
Maschi Adulti	.024	5.12	4400 (7)	700 (17)	
GRASSO MIDOLLO TIBIALE					
Adulti dei due sessi	.066	5.45	3255 (6)	660 (9)	905 (20)
Adulti dei due sessi	.022	161.01	3255 (6)	790 (29)	
Maschi Adulti	.085	4.94	4620 (5)	600 (6)	1035 (12)

una vallata alpina (Rossi *et al.*, 1997), il picco di abbondanza cadeva in dicembre-gennaio per *N.europaeus* e in giugno-luglio per *S. spiculoptera/mathevossiani*.

Anche in questo caso non si registravano fluttuazioni stagionali relative ad *O. leptospicularis/kolkida*.

Non sono emerse differenze significative tra le cariche abomasali ed intestinali nei due sessi (rispettivamente,  $p=0.981$  e  $0.994$ ) e in soggetti di età inferiore all'anno rispetto agli adulti s.l. ( $p=0.201$  e  $0.431$ ). Sono invece emerse associazioni statisticamente significative o tendenziali fra l'abbondanza dei nematodi abomasali e alcuni parametri utilizzati per valutare la condizione corporale degli ospiti (Tab.3-4). I valori ottenuti indicano come probabile un'in-

fluenza dei nematodi abomasali sulla condizione fisica dell'ospite. Come da Tab.5, tale influenza si manifesterebbe per valori di abbondanza superiori alla media aritmetica del campione esaminato. Nell'indagine di Rossi *et al.* (1997), valori di abbondanza inferiori a 500 nematodi abomasali non erano parsi comportare un impatto negativo sulla condizione fisica dell'ospite. Quanto ai caprioli dell'Appennino Savonese, la minor entità del campione e la sua distribuzione su un arco di tempo piuttosto ampio non permettono di escludere l'influenza, sui risultati, di variabili esterne al binomio ospite-parassita. Solo l'esame di un maggior numero di soggetti potrà chiarire se, in quest'area di studio, i nematodi abomasali abbiano un impatto misurabile sulla condizione fisica dei caprioli.

**Tab. 4** - Correlazione fra cariche elmintiche abomasali e Indice di Grasso Renale o KFI (Spearman Rank Correlation Coefficient).

CATEGORIE	P	R	N.
Femmine Adulte	0.002	-0.836	11
Maschi Adulti	0.079	-0.383	22
Adulti dei due sessi in autunno-inverno	0.001	-0.879	10

**Tab. 5** - Relazione tra i valori di Kidney Fat Index e l'abbondanza dei nematodi abomasali in gruppi di caprioli creati in base all'abbondanza dei questi ultimi (test di Mann-Whitney, test di Kruskal-Wallis).

CATEGORIE	P	H/T	KIDNEY FAT INDEX		
			CLASSI DI ABBONDANZA DEI NEMATODI ABOMASALI	>M*	<M>M/2
MM Adulti	.006	10.35	7.7 (5)	20.7 (7)	26.8 (10)
FF Adulte	.005	-3.69	11.5 (5)	103.9 (6)	
Giovani	.034	2.12	6.7 (4)	18.5 (12)	

(\*M=media elminti abomasali; numero dei casi in parentesi)

## Bibliografia

- BARTH D. (1972) - Workommen, Diagnose und Therapie des Magen Darm Nematodenbefalls bei Reh und Rothwild. *Dtsch Tierarztl Wschr*, 79: 508-514.
- CANESTRI-TROTTI G., SCOZZOLI M. & TESTI F. (1988) - Indagini parassitologiche in caprioli dell'Appennino Forlivese. *Parassitologia*, 30 (Suppl.1): 45-46.
- DROZDZ J. (1966) - Studies on helminths and helminthiases in Cervidae. II. The helminth fauna in Cervidae in Poland. *Acta Parasitol. Polon.*, 14: 2-13.
- GENCHI C., MANFREDI M.T. & PALLANTE G. (1988) - Elmintofauna gastro-intestinale del capriolo (*Capreolus capreolus*) in provincia di Trento. *Studi Trentini di Scienze Naturali*, 64: 157-164.
- GENCHI C., MANFREDI M.T., LANFRANCHI P., DI SACCO B. & FRIGO W. (1989) - Correlazione tra elmintofauna e parametri epidemiologici in ungulati selvatici del Parco Nazionale dello Stelvio. *Quaderni del Parco Nazionale dello Stelvio*. 7: 27-50.
- GENCHI C., MANFREDI M.T., RIZZOLI A.P., MADONNA M. & ZAFFARONI E. (1992) - Comunità elmintiche in popolazioni di caprioli (*Capreolus capreolus*). *Parassitologia*, 34 (Suppl.1): 74-75.
- JANSEN J. (1972) - On *Nematodirus europaeus* n.sp. from the small intestine of the roe deer (*Capreolus capreolus*). *J. Helminth.* 46: 235-239.
- LICHTENFELS J.R. & HOBERG E.P. (1993) - The systematics of nematodes that cause Ostertagiasis in domestic and wild ruminants in North America: an update and a key to species. *Veterinary Parasitology*, 46: 33-53.
- MARGOLIS L., ESCH G.W., HOLMES J.C., KURIS A.M. & SCHAD G.A. (1982) - The use of ecological terms in parasitology. *J. Parasit.*, 68: 131-133.
- POGLAYEN G., CAPELLI & BOCCI G. (1990) - Indagine sull'elmintofauna del capriolo (*Capreolus capreolus*) in provincia di Trento e Treviso. *Parassitologia*, 32 (Suppl.): 208-209.
- POGLAYEN G., RODA R., CATANI M., BELLI C. & FRANCESCHI P. (1996) - Fauna parassitaria del capriolo (*Capreolus capreolus*) nell'Alto Mugello - Firenze. *Suppl. Ric. Biol. Selvaggina*, 24: 69-72.
- RAESFELD F., NEUHAUS A.H. & SCHAICH K. (1986) - *Das Rehwild*. Paul Parey Verlag, Hamburg (D), pp.455.
- RINEY T. (1955) - Evaluating condition of free ranging red deer (*Cervus elaphus*) with special reference to New Zealand. *New Zealand J. Sci. Tech.* B. 36: 429-463.
- RIZZOLI A.P., ZAFFARONI E., FRAQUELLI C., GENCHI C. & MANFREDI M.T. (1993) - La gestione faunistica nel Parco Naturale Adamello-Brenta: monitoraggio sullo stato sanitario degli ungulati selvatici. *Parco Documenti. Notiziario Ufficiale del Parco Naturale Adamello-Brenta*, 3: 50-75.
- ROSSI P. (1983) - Sur le genre *Nematodirus* Ransom 1907 (Nematoda: Trichostrongyloidea). *Ann. Parasitol. Hum.* 58: 557-581.
- ROSSI L., ECKEL B. & FERROGLIO E. (1997) - A survey of the gastro-intestinal nematodes of roe deer (*Capreolus capreolus*) in a mountain habitat. *Parassitologia*, 39: 303-312.
- SKRJABIN K.I., SHIKHOBALOVA N.P. & SHUL'TS R.S. (1954) - Trichostrongylids of Animals and Man. In: *Essentials of Nematology*, (K.I.Skrjabin, Ed.). The Academy of the USSR, Moscow (CSI), pp.704.
- TRALDI G., MANFREDI M.T., ZANIN E. & FRIGO W. (1986) - Infestazioni naturali da nematodi dell'apparato digerente del camoscio (*Rupicapra rupicapra*) e del capriolo (*Capreolus capreolus*) nella provincia di Trento e Bolzano. *Ann. Ist. Sup. San.* 22: 483-486.
- ZAFFARONI E., SIBONI A. & RIZZOLI A.P. (1995) - Elmintofauna abomasale di capriolo (*Capreolus capreolus*): raffronto comparativo tra animali abbattuti e rinvenuti morti e relative implicazioni gestionali. *BIPAS*, 12: 69-71.
- ZAFFARONI E., FRAQUELLI C., MANFREDI M.T., SIBONI A., LANFRANCHI P., SARTORI E. & PARTE P. (1996) - Abomasal helminth communities in eastern Alpine sympatric Roe deer (*Capreolus capreolus*) and Chamois (*Rupicapra rupicapra*) population. *Suppl. Ric. Bio. Selvaggina*, 24: 53-68.

# INTERVENTI MEDICO VETERINARI SU TARTARUGHE MARINE COMUNI SPIAGGIATE NEL NORD ADRIATICO

Zucca P.\*, Francese M.\*\*, Zuppa F.\*\*, Spoto M.\*\*, Oberosler R.\*

\* Facoltà di Medicina Veterinaria, Univ. degli Studi di Udine, Viale delle Scienze 208 -33100 Udine

\*\* Riserva Marina di Miramare, Ministero dell'Ambiente, Viale Miramare, 349 - 34014 Trieste

**Riassunto** - Il Gruppo di pronto intervento (Centro Studi Cetacei) della Riserva Marina di Miramare, Ministero dell'Ambiente, composto da un veterinario e due biologi, è intervenuto su 19 esemplari di Tartaruga marina comune (*Caretta caretta*) spiaggiati (vivi o morti) sulle coste del Nord Adriatico nel periodo gennaio 1997 - luglio 1998. Oltre alla raccolta dei dati biometrici è stato portato avanti un programma di monitoraggio sanitario di questi rettili marini, le cui popolazioni risentono pesantemente delle attività dell'uomo e sono in declino in tutto il Mediterraneo. Dai risultati ottenuti emerge che le attività antropiche rappresentano la causa principale di morte/malattia delle Tartarughe che frequentano questo ambito costiero.

**Abstract** - **Veterinary interventions on Loggerhead turtles *Caretta caretta* stranded in the North Adriatic Sea.** Between January 1997 and July 1998 the rescue team of the Ministry of Environment's Marine Reserve in Miramare, (which consists of one veterinarian and two biologists), came across a total of 19 stranded Loggerhead sea turtles *Caretta caretta*, both living and dead, along the coastal areas of Northern Adriatic. In addition to collecting biometric data, a health monitoring programme was carried out on these marine reptiles, whose number is falling throughout the Mediterranean due to human activity. From the results obtained it has emerged that anthropical activity is the main cause of death and illness in sea turtles inhabiting this coastal region.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 279- 282

## 1. Introduzione

La Tartaruga marina comune *Caretta caretta* è il Chelonide più diffuso nel Mediterraneo. E' un rettile che da adulto può raggiungere gli 80-120 cm di lunghezza e pesare 80-120 kg. La colorazione del carapace è di un rosso-brunastro uniforme mentre il piastrone è giallastro. E' una specie esclusivamente marina e solo la femmina viene a terra per deporre le uova. Gli individui sub-adulti, dopo aver raggiunto i 40-50 cm di lunghezza si avvicinano alle acque costiere dove trovano il loro habitat trofico. La testa molto robusta presenta un potente becco adatto alla dieta prevalentemente "carnivora" della specie. Gli esemplari sub-adulti e gli adulti si nutrono principalmente di crostacei, gasteropodi e di pesci.

Le conoscenze sugli spostamenti di questi rettili marini sono ancora molto sommarie nonostante le numerose iniziative di marcatura in corso; di certo si sa che gli spostamenti ciclici sono legati alle stagioni e alla deposizione delle uova. Nel Mediterraneo le nidificazioni avvengono tra maggio e agosto con un massimo nel mese di giugno.

Da molti anni le popolazioni di tartarughe marine presenti nel Mediterraneo stanno diminuendo per molti motivi tra i quali ricordiamo: le attività di pesca, la presenza di tossici ambienta-

li, la distruzione degli habitat e il disturbo antropico nei siti di nidificazione (AA.VV., 1991 e 1995). In risposta a questo fenomeno molti enti, istituti di ricerca e organizzazioni private si sono mobilitate per arginare il fenomeno. Nel nord Adriatico è operativo il gruppo di pronto intervento del Centro Studi Cetacei (CSC) che fa capo, per la Regione Friuli Venezia Giulia, alla Riserva Marina di Miramare. Tale struttura operativa, pur essendo nata come pronto soccorso per cetacei, si attiva anche in caso di spiaggiamenti di tartarughe marine.

## 2. Materiali e metodi

Il termine spiaggiamento viene comunemente utilizzato per indicare l'arenarsi di uno o più animali sulla costa. Taluni autori (Fрати *et al.*, 1996) differenziano lo spiaggiamento in attivo (che necessita di una attiva partecipazione dell'animale) e passivo (legato ad eventi traumatici: reti da pesca, cause ambientali o stati patologici, come, ad esempio, malattie virali, batteriche e/o parassitarie). Il fenomeno dello spiaggiamento di tartarughe marine adulte si concentra nei mesi estivi, quando questi rettili si avvicinano alle coste per la deposizione.

Nel periodo gennaio 1997 - luglio 1998 sono state rinvenuti 19 esemplari di tartaruga marina comune (*Caretta caretta*) spiaggiati sulle

coste del nord Adriatico. Non appena giunge una segnalazione di spiaggiamento alla Riserva Marina di Miramare, viene attivato il gruppo di pronto intervento costituito da un veterinario e da due biologi i quali, con il supporto delle Forze dell'Ordine (Capitaneria di Porto, Carabinieri subacquei, etc.) intervengono sul posto (Zucca *et al.*, 1999). Vengono raccolti immediatamente i dati biometrici e di segnalazione dell'animale (misure carapace, testa, presenza di eventuali marcature, etc.). Se la tartaruga spiaggata è ancora viva viene sottoposta ad una visita clinica e agli esami di laboratorio del caso (tamponi, ematochimica, esami parassitologici, raccolta di campioni di crostacei parassiti presenti sul carapace, etc.) seguendo i protocolli suggeriti da McArthur (1996), Chrisman *et al.* (1997), Gabrisch e Zwart (1998), Stamper (1994). A seconda delle condizioni sanitarie, la Tartaruga viene liberata immediatamente in mare aperto oppure ricoverata presso le strutture della Riserva Marina di Miramare. Nel caso di spiaggiamento di animali morti, quando lo stato di conservazione della carcassa lo permette, viene effettuato l'esame autoptico.

### 3. Risultati

Si riporta nella tabella 1 un elenco delle tartarughe spiaggiate, vive o morte, la data, la causa dello spiaggiamento e la descrizione del relativo intervento medico veterinario.

### 4. Discussione

Gli animali spiaggati rappresentano solamente una piccola parte di quelli che muoiono, ma sono comunque un campione indicativo dello stato di salute della popolazione di tartarughe marine comuni che frequenta il nord Adriatico. Nonostante il campione esaminato sia piuttosto basso (n=19), risulta evidente, da quanto riportato in precedenza, che le attività antropiche sono la causa principale di malattia/morte per le tartarughe che frequentano questo ambito costiero (Fig. 1).

L'episodio delle quattro tartarughe di grosse dimensioni trovate morte a pochi giorni di distanza una dall'altra (Tab. 1 - n. prog. 14, 15, 16, 17), fa sorgere un'ipotesi sconcertante sulla loro causa di decesso. In entrambi gli esemplari, a cui si è potuto effettuare l'esame autoptico, si è evidenziato un marcato edema sottocutaneo localizzato, la cui origine potrebbe essere collegata ad un onda d'urto. Purtroppo l'abitudine di pescare usando esplosivi sembra non sia ancora tramontata nell'Adriatico e queste quattro tartarughe potrebbero essere solamente

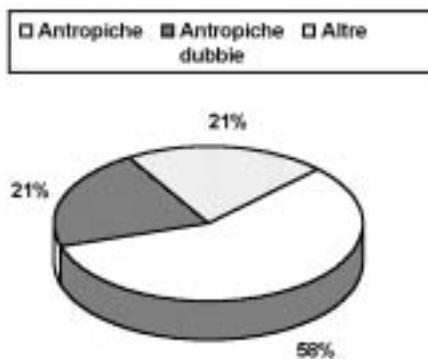


Fig. 1 - Cause di spiaggiamento di Tartaruga marina comune (*Caretta caretta*) nel nord Adriatico, nel periodo 1997 - Luglio 1998

alcune delle tante vittime di questo tipo illegale di "pesca".

Considerato il pesante impatto che le attività dell'uomo hanno sulle popolazioni di tartarughe marine e visto il loro importante ruolo di "sentinelle sanitarie ambientali", risulterebbe di primaria importanza monitorare anche dal punto di vista sanitario, tutte le *Caretta caretta* che si spiaggiano sulle coste italiane. Di fondamentale importanza per il raggiungimento di questo obiettivo è la stretta collaborazione tra veterinari e biologi, come auspicato da molti autori per altre specie animali (Cooper, 1993).

### 5. Ringraziamenti

Si ringrazia il Dr. Stuart McArthur, MRCVS, per le informazioni fornite ed i seguenti Enti e Istituzioni per la fattiva collaborazione: Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Udine (Dr.ssa Francesca Costantini), Capitanerie di Porto di Trieste e di Grado, Carabinieri Subacquei di Trieste, Ufficio Circondariale Marittimo di Grado, Ufficio Tecnico del Comune di Grado, Corpo di Polizia Municipale del Comune di Lignano Sabbiadoro, Ufficio Circondariale Marittimo di Caorle, Società della Vela di Arzignano (VI).

### Bibliografia

- AA.VV. (1991) - *Recovery Plan for U.S. Population of Loggerhead Turtle*. National Marine Fisheries Service and U.S. Fish and Wildlife Service, 1991. Washington D.C.
- AA.VV. (1995) - *Status reviews for Sea Turtles Listed Under The Endangered Species Act of 1973*. National Marine Fisheries Service, National Marine Fisheries Service and U.S. Fish and Wildlife Service, Silver Spring, Maryland.

**Tab. 1** - Spiaggiamenti di *Tartaruga marina* comune (*Caretta caretta*) nel nord Adriatico nel periodo 1997 - Luglio 1998 e relative note medico veterinarie

N. prog	Data	Descrizione dell'animale	Tipo e luogo di spiaggiamento	Note medico-veterinarie
01)	Mag '97	Adulto 70 cm	Spiaggiata morente. Provincia di Gorizia.	Lacerazione profonda a livello del collo e vari ferite da elica sul carapace.
02)	Mag '97	Adulto 100 cm	Spiaggiata morta. Provincia di Gorizia.	Carcassa in avanzato stato di decomposizione. Il carapace presenta delle ferite profonde e la testa è quasi staccata dal corpo (elica?).
03)	Giu '97	Adulto 120 cm	Catturata con una rete da pesca e portata a riva dal pescatore. Provincia di Udine.	Nessuna forma patologia evidente. Marcata con targhetta metallica E875 e liberata in mare aperto.
04)	Giu '97	Adulto 100 cm	Impigliata in una rete da pesca e portata a riva dal pescatore. Provincia di Trieste.	Compressione a livello della pinna anteriore destra. Ricoverata per alcuni giorni presso la Riserva Marina di Miramare. Isolati <i>Morganella morgagni</i> e <i>Vibrio alginolyticus</i> , da tampone rettale <sup>1</sup> , entrambi con elevata antibiotico resistenza. Soggetto marcato con targhetta metallica H41 e liberato in mare aperto.
05)	Lug '97	Giovane 40 cm	Spiaggiata viva. Provincia di Udine.	Pesante infestazione da crostacei parassiti (Balani) su tutto il corpo. Somministrata terapia del caso, deceduta dopo 20 gg di ricovero presso la Riserva Marina di Miramare. Nessuna forma patologica evidenziabile.
06)	Lug '97	Giovane 45 cm	Spiaggiata morta. Provincia di Gorizia.	
07)	Lug '97	Adulto 120 cm	Morta dentro una rete da pesca. Provincia di Udine.	Decesso imputabile alla cattura con rete. Il soggetto, era lo stesso finito in una rete un mese prima e liberato in mare aperto (targhetta E875 - cfr. n. prog. 03).
08)	Lug '97	Adulto 80 cm	Spiaggiata morta. Provincia di Udine.	Impossibile effettuare l'autopsia per cattivo stato di conservazione della carcassa.
09)	Lug '97	Giovane 30 cm	Catturata in rete sacca-leva. Provincia di Trieste.	Soggetto in buone condizioni di salute, liberato in mare aperto.
10)	Mag '98	Giovane 35 cm	Spiaggiata viva. Provincia di Trieste	Amo da pesca conficcato in bocca. Estratto l'amo e liberata in mare aperto.
11)	Giu '98	Sub-adulto 65 cm	Morta galleggiante - portata a riva da diportisti. Provincia di Trieste.	Soggetto pesantemente infestato da Balani. Cattivo stato di conservazione della carcassa, nessuna altra lesione evidenziabile.
12)	Giu '98	Adulto 78 cm	Spiaggiata morta. Provincia di Gorizia.	Cattivo stato di conservazione della carcassa, nessuna altra lesione evidenziabile.
13)	Giu '98	Giovane 26 cm	Spiaggiata viva. Provincia di Trieste.	Amo da pesca conficcato in bocca. Estratto l'amo da palamito e liberata senza marcatura vista le dimensioni ridotte.
14)	Giu '98	Adulto 110 cm	Spiaggiata morta. Provincia di Trieste.	Marcato edema sottocutaneo a livello del piastrone e parte inferiore testa e arti. Assenza di parassitosi e negativo all'esame culturale per <i>Salmonella</i> . Nessuna altra lesione evidenziabile.
15)	Giu '98	Adulto 100 cm	Spiaggiata morta. Provincia di Trieste.	Nessuna lesione esterna. Impossibile effettuare l'autopsia per cattivo stato di conservazione della carcassa.

N. prog	Data	Descrizione dell'animale	Tipo e luogo di spiaggiamento	Note medico-veterinarie
16)	Giu '98	Adulto 90 cm	Spiaggiata morta. Provincia di Gorizia.	Nessuna lesione esterna. Impossibile effettuare l'autopsia per cattivo stato di conservazione della carcassa.
17)	Giu '98	Adulto 100 cm	Spiaggiata morta Provincia di Venezia.	Epistassi, nessuna altra lesione esterna. All'esame autoptico presenta marcato edema sottocutaneo a livello del piastrone e parte inferiore testa e arti. Nessuna altra forma patologica evidenziabile.
18)	Lug '98	Giovane 30 cm	Spiaggiata viva Provincia di Trieste.	Amo conficcato in bocca. Estratto l'amo e liberata in mare aperto.
19)	Lug '98	Giovane 40 cm	Spiaggiata viva Provincia di Trieste.	Amo conficcato in bocca. Estratto l'amo e liberata in mare aperto.

Legenda: N. prog = numero progressivo.

(1) *Morganella morgani* e *Vibrio alginolyticus* sono presenti spesso a livello enterico, in questi rettili marini (McArthur, com. Pers.).

COOPER J.E. (1993) - The need for closer collaboration between biologists and veterinarians in research on raptors. In: Redig P.T., Cooper J.E., Remple D., Hunter D.B. (Eds.), *Raptor Biomedicine*, University of Minnesota Press, Minneapolis.

CHRISMAN C.L., WALSH M., MEEKS J.C., ZURAWKA H., LAROCK R., HERBST L. & SCHUMACHER J. (1997) - Neurologic examination of sea turtles. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 211:1043-7.

FRATI R., AGRIMI U., KENNEDY S., FORLETTA R., TERRACCIANO G., MARCON S. & DI GUARDO G. (1996) - Parassitosi nei mammiferi acquatici con particolare riferimento ai cetacei. *Obiettivi e Documenti Veterinari*, 1/96: 79-88.

GABRISCH K. & ZWART P. (1998) - Schildkröten. In: Gabrisch K. und Zwart P. (Eds.), *Krankheiten der Heimtiere*, 4., Überarb. Aufl., Hannover, Schlütersche.

MCARTHUR S. (1996) - *Veterinary management of tortoises and turtles*. Blackwell Science, Oxford, UK.

STAMPER M.A. (1994) - Medical observations and implications on "Healthy" sea turtles prior to release into the wild. *Proc. Am. Ass. of Zoo Vets.*, 182-183.

ZUCCA P., FRANCESE M., SPOTO M., ZUPPA F. & OBEROSLER R. (1999) - Intervento medico veterinario su di un esemplare di Grampo (*Grampo griseus*) spiaggiato a Grado. *Fauna, Bollettino degli Osservatori Faunistici della Regione Friuli Venezia Giulia*.

# EPISODI DI MORTALITÀ DETERMINATI DA *E. COLI* NEL CAPRIOLO NELL'APPENNINO SETTENTRIONALE

Guberti V.\*, Battisti A.\*\*\*, De Marco M. A.\*, Morabito S.#, Delogu M.^, Di Guardo G.\*\*\*, Buccella C.\*\*\*, Lavazza A.§, Raganella Pelliccioni E.\*

\* Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica, Ozzano Emilia (BO)

\*\* Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Roma

# Istituto Superiore di Sanità, Laboratorio di Veterinaria, Roma

^ Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Ozzano Emilia (BO).

§ Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia, Brescia.

**Riassunto** - Viene descritta un'epidemia di *E. coli* enteropatogeni (EPEC) in una metapopolazione di Capriolo dell'Appennino settentrionale (Fo). La metapopolazione censita era di 132 animali di cui 40 muniti di radiocollare. La morbilità negli animali radiocollari è stata del 12.5% (DS 5.2%), la letalità del 80% (DS 18%) e la mortalità del 10% (DS 4.7%). Il batterio responsabile dell'infezione è stato classificato come *E. coli* (EPEC) 0:74. Vengono descritte le principali lesioni anatomo-patologiche e i sintomi clinici registrati negli animali infetti.

**Abstract** - 0:74 *Escherichia coli* epidemic in a Roe deer metapopulation of the Northern Apennines, Italy. An epidemic of enteropathogenic (EPEC) *E. coli* in a free living metapopulation of Roe deer *Capreolus capreolus* of the Northern Apennines (Italy) is described. 40 out of the 132 censued animals were radiocollared. In the radiocollared animals the infection resulted in a morbidity of 12.5% (SD 5.2%), with a lethality of 80% (SD 18%) and the whole mortality reached 10% (SD 4.7%). The *E. coli* responsible of the infection was classified as 0:74. The pathological lesions and some clinical features of the infection are described.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 283- 286

## 1. Introduzione

All'inizio del 1998, in una sub-popolazione di Capriolo (*Capreolus capreolus*) dell'Appennino Forlivese, costituita da 132 soggetti (censiti), 40 dei quali provvisti di radiocollare, sono stati osservati casi di diarrea con conseguente emaciazione e morte di una parte dei soggetti con sintomatologia. La malattia, nella subpopolazione radiocollata, ha evidenziato una morbilità stimata del 12.5%+5.2, una letalità dell'80%+18 ed una mortalità totale del 10%+4.7.

L'infezione è apparsa in modo epidemico nell'area di studio, senza alcuna segnalazione di malattia delle popolazioni di capriolo limitrofe. Tale evenienza fa supporre che l'iniziale serbatoio epidemiologico fosse rappresentato da altre specie simpatriche. Allo stato attuale non è stato possibile operare un soddisfacente campionamento sulle specie domestiche nell'area di studio, né si è venuti a conoscenza di eventuali casi di mortalità riferibili ad enterite. I soggetti malati presentavano cattive condizioni fisiche, marcata diarrea rilevabile a distanza (imbrattamento della regione perineale e delle aree mediali delle cosce), notevole riduzione dell'home range, ottundimento del sensorio prima dell'*exitus*, che occorreva in circa 7-10

giorni dall'apparire della sintomatologia rilevabile a distanza.

## 2. Materiali e metodi

Sono stati eseguiti esami anatomopatologici sui soggetti rinvenuti morti e su quelli macellati in seguito ad abbattimento. Porzioni rappresentative di vari distretti di intestino tenue e crasso sono state sottoposte ad esami colturali per agenti batterici, virali, micotici e per accertamenti di microscopia elettronica. Strisci di materiale intestinale sono stati preparati per l'osservazione a fresco e per colorazione di Ziehl Neelsen per *Mycobacterium* spp.. Analoghe porzioni sono state fissate in formalina tamponata al 10% e successivamente incluse in paraffina per gli esami istologici. Per gli esami batteriologici sono state eseguite colture e colture di arricchimento rispettivamente per *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Yersinia* spp., *Campylobacter* spp. Da pool di colonie di *E. coli* è stata effettuata la ricerca del gene *eae* mediante Polymerase Chain Reaction (PCR) (Schmidt *et al.*, 1994b), il test di tossicità su cellule Vero (Giammanco *et al.*, 1996). La ricerca del gene *eae* mediante PCR stata ripetuta da singole colonie isolate in purezza a partire dai pool positivi.

### 3. Risultati e discussione

All'esame autoptico, gli animali mostravano i caratteristici segni di cachessia, disidratazione e totale assenza di depositi adiposi, ed enterite catarrale come unico rilievo anatomico-patologico. Istologicamente si osservava atrofia, erosione e necrosi dei villi intestinali, talvolta con evidenti fenomeni di fusione apicale. Nella tonaca propria si osservava frequentemente un diffuso infiltrato di cellule infiammatorie mononucleate.

Gli esami culturali eseguiti a partire da tratti di intestino tenue ed intestino crasso di 10 soggetti rinvenuti morti e che presentavano diarrea prima del decesso e di 2 soggetti apparentemente sani sono esposti in Tabella 1.

In particolare, in 4 soggetti con diarrea sono stati isolati stipti di *Y. enterocolitica*. Uno stipte tra questi è stato finora identificato come sierotipo O:8.

A partire da colture primarie di *E. coli* da intestino tenue e da intestino crasso di 4 soggetti con diarrea sono stati individuate sequenze relative al gene cromosomale *eae*. Tale gene, che codifica per una proteina di membrana responsabile del fenomeno di "attaching and effacing" a carico dei microvilli degli enterociti (Yu e Kaper, 1992), è tipico di ceppi di *E. coli*

enteropatogeni (EPEC) e di *E. coli* enteroemorragici (EHEC). I successivi saggi di tali stipti per la produzione di verotossine (VTs) ha dato esito negativo, per cui essi sono da ritenersi EPEC. Uno di questi stipti è stato sierologicamente identificato come O:74.

L'adesione di EPEC alla parete del piccolo e grosso intestino produce una lesione definita "AE lesion". Tale tipo di lesione è nota per essere costantemente associata, anche in studi su modelli animali, a piena virulenza degli stipti di *E. coli* in grado di determinarla. Essa consiste in un'iniziale distruzione dei microvilli dell'enterocita, seguita spesso da una modificazione della morfologia della membrana cellulare (che accoglie i singoli batteri in una tipica struttura pendente a forma di coppa) e della struttura del citoscheletro al di sotto dell'area di adesione (Ulshen & Rollo, 1980; Rothbaum *et al.*, 1982). I meccanismi fisiopatologici successivi alla colonizzazione intestinale da parte di EPEC e che conducono all'abnorme secrezione di fluidi ed alla diarrea, non sono ancora del tutto chiari. La fosforilazione di proteine del citoscheletro e l'aumento di ioni calcio intracellulari (Donnenberg & Kaper, 1992) potrebbero influenzare la permeabilità intestinale. La soffe-

**Tab. 1** - Esiti delle indagini microbiologiche eseguite su 12 caprioli dell'Appennino Forlivese

Capriolo	Sesso	Classe/età	Località	Data	Note	Esito microbiologico
T56	F	II/19 mesi	Tredozio (FO)	21/01/98	diarrea	<i>E. coli eae</i> <i>Y. enterocolitica</i>
T 57	M	II/3-4 anni	Tredozio (FO)	21/01/98	no diarrea, predato	negativo
T 58	F	II/ 3-4 anni	Tredozio (FO)	31/01/98	diarrea, cahettico	<i>E. coli eae</i> <i>Y. enterocolitica</i>
ATC	M	III	Modigliana (FO)	21/01/98	diarrea	negativo
T 53	F	III/8-9 anni	Dovadola (FO)	16/01/98	diarrea	<i>E. coli eae</i> <i>Y. enterocolitica</i>
A 105	F	II	Tredozio	07/02/98	diarrea	negativo
F 29	F	II	Tredozio	06/02/98	diarrea	negativo
T 66	F	II	Tredozio	06/02/98	diarrea	negativo
T 61	M	II	Tredozio	27/01/98	diarrea	<i>E. coli eae</i> <i>Y. Enterocolitica</i>
T 65	M	III	Tredozio	06/02/98	no diarrea	Negativo
T 51	M	nd	Tredozio	04/01/98	diarrea	Negativo
T 52	M	I	Tredozio	08/01/98	diarrea	Negativo

nd = non determinata; Classe I = 7-19 mesi; Classe II = >19 mesi-6-7 anni; Classe III = >7 anni.

renza cellulare e la perdita di superficie assorbente da parte degli enterociti, potrebbero in parte spiegare la persistenza della diarrea.

Nel corso delle osservazioni finora condotte su tale popolazione di caprioli, da altri 3 soggetti su 10 con diarrea e da 1 soggetto su 2 senza sintomi è stata rilevata la presenza di *E. coli* produttori di verotossine (VTEC). Le verotossine (VTs), distinte in almeno due forme principali, VT1 e VT2, sono proteine ad azione citotossica che inibiscono la sintesi proteica delle cellule eucariote. Sono simili per sequenze aminoacidiche e per meccanismo di azione alle Shiga toxins (STs) prodotte da *Shigella dysenteriae*, e perciò attualmente vengono anche definite come Shiga-like toxins (SLT1 ed SLT2). Sono codificate da geni presenti in batteriofagi temperati. E' però noto come la produzione di VTs o la presenza di sequenze geniche codificanti per esse in stipiti di *E. coli* non è condizione sufficiente perchè i suddetti siano annoverati tra gli agenti patogeni per gli animali e per l'Uomo. Infatti, stipiti VTEC sono frequentemente presenti tra le popolazione intestinali di *E. coli* di individui sani. A tale proposito, Patton *et al.* (1993) hanno rinvenuto sequenze codificanti per VT nel 50% circa di bambini apparentemente in buono stato di salute.

E' evidente che la produzione di VT è da considerarsi un indicatore di patogenicità solo se associato alla presenza di uno o più fattori di virulenza (Karch *et al.*, 1987; Schmidt *et al.*, 1994a).

Per poter esplicitare azione di patogenicità (enteriti emorragiche e sequele come la Haemolytic Uremic Syndrome, HUS) è quindi necessario che gli stipiti VTEC possiedano almeno fattori di adesione (Fig. 1). Gli stipiti di questa particolare subpopolazione, provvisti almeno di fattore di adesione e produttori di VTs, sono generalmente definiti enterohaemorrhagic *E. coli*.

A tale proposito è significativo il riscontro in 4 caprioli di stipiti di *E. coli* positivi per il gene *eae*, e quindi in possesso di un fattore di adesione, tutti mancanti della capacità di produrre VTs. Gli unici ceppi di *E. coli* produttori di VTs riscontrati in altri 4 caprioli sui 12 esaminati mancavano invece di fattori di adesione, e quindi non possono essere considerati potenzialmente patogeni. In sostanza, sono stati riscontrati EPEC soltanto in soggetti negativi per VTEC.

La proporzione di caprioli positivi per VTEC (4/12) e per EPEC (4/12) tra quelli oggetto di questa nota potrebbe derivare dalla presenza di analoghi stipiti nella locale popolazione di bovini ed ovini, con i quali i primi condividono, per alcuni periodi dell'anno, aree di pascolo. A tale proposito, su 4 campioni di feci di bovini al pascolo in queste aree, 3 erano positivi per VTEC. Sono già state descritte, del resto, prevalenze significative di VTEC in varie popolazioni di bovini ed ovini in assenza di sintomi (Sidjabat-Tambunan & Bensik, 1997).

#### 4. Conclusioni

Le ricerche finora condotte e l'acquisizione di dati preliminari, che indicherebbero almeno l'esclusione di vari agenti patogeni per l'apparato intestinale ed il possibile coinvolgimento di altri, spingono ad approfondire lo studio di tale popolazione dal punto di vista sanitario.

Resta da determinare:

*i.* in quale misura gli stipiti EPEC rinvenuti nella locale popolazione di capriolo siano responsabili, da soli od in associazione ad altri agenti patogeni, del corredo sintomatologico osservato. Infatti in 2 soggetti su 4 positivi per EPEC è stata rinvenuta la contemporanea presenza di ceppi *Y. enterocolitica*. Tale specie batterica è infatti in grado di provocare focolai di enterite nei cervidi (Wilson, 1993). E' tuttavia

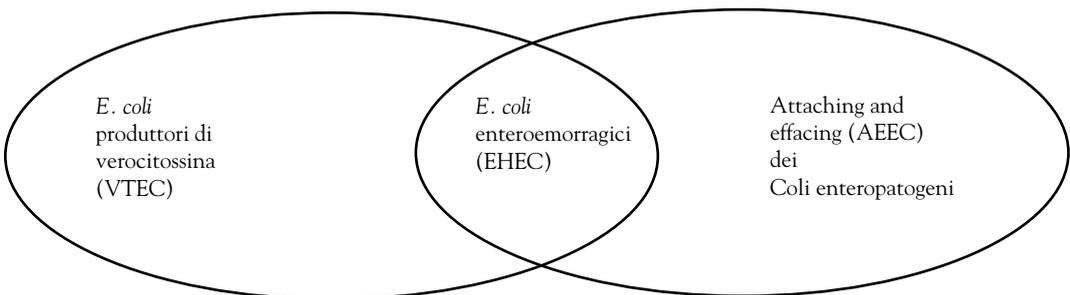


Fig. 1 – rappresentazione schematica di alcune popolazioni di *E. coli* riscontrabili negli animali e nell'uomo

necessario ricercare la presenza di fattori di patogenicità negli stiptiti in questione per poter meglio valutare un loro eventuale ruolo nella malattia;

ii. più in generale, quale interazione esiste tra le locali popolazioni di ruminanti domestici e il capriolo e quale comunione o interscambio di microparassiti intercorra tra esse.

Allo stato delle conoscenze finora acquisite, il fenomeno morboso osservato sembra essere un problema prettamente di Sanità animale. Non si ravvisano infatti, per le ragioni suesposte, un rischio di salute pubblica maggiore che in altre aree in cui esiste l'interazione uomo-capriolo, o più estensivamente, l'interazione uomo-ruminanti, siano essi domestici o selvatici.

Per ottenere un quadro più dettagliato sull'eziologia, la patogenesi, l'epidemiologia di questa sindrome morbosa, è necessario ottenere informazioni più dettagliate sul campo, relativamente alla struttura di popolazione, ai gruppi di età colpiti, alla morbilità, alla durata della malattia, alla letalità, all'interazione tra questa specie e quelle domestiche. Questo è il presupposto per includere nello studio un numero più significativo di individui malati e sani, in modo tale da che si possa concorrere a chiarire il problema.

E' quindi auspicabile che tale approfondimento venga condotto attraverso un'adeguata integrazione delle competenze tra specialisti in materia di gestione sanitaria della fauna selvatica e quanti sono deputati alla gestione sanitaria di specie domestiche.

### Bibliografia

DONNENBERG M. S. & KAPER J. B. (1992) - Enteropathogenic *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, 60: 3953-3961.

GIAMMANCO A., MAGGIO M., GIAMMANCO G., MORELLI R., MINELLI F., SCHEUTZ F. & CAPRIOLI A. (1996) - Characteristics of *Escherichia coli* strains belonging to enteropathogenic *E. coli* serogroups

isolated in Italy from children with diarrhea. *Journal of Clinical Microbiology*, 34:689-694.

KARCH H., HEESEMANN J. & LAUFS R. (1987) - A plasmid of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O:157:H7 is required for the expression of a new fimbrial antigen and for the adhesion to epithelial cells. *Infection and Immunity*, 55:455-461.

PATTON A., PATON J. C., GOLDWATER P. N. & MANNING P. A. (1993) - Direct detection of *Escherichia coli* Shiga-like toxin genes in primary fecal cultures by polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*, 31:3063-3067.

ROTHBAUM R., MCADAMS A. J., GIANELLA R. & PARTIN J.C. (1982) - A clinicopathological study of enterocyte-adherent *Escherichia coli*: a cause of protracted diarrhea in infants. *Gastroenterology*, 83, 441-454.

SCHMIDT H., KARCH H. & BEUTIN L. (1994a) - The large-sized plasmids of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O:157 strains encode hemolysins which are presumably members of the *E. coli* alpha-hemolysin family. *FEMS Microbiology Letter*, 117:189-196.

SCHMIDT H., PLASCHKE B., FRANKE S., RUSSMANN H., SCHWARZKOPF A., HEESEMANN J. & KARCH H. (1994b) - Differentiation in virulence patterns of *Escherichia coli* possessing the *eae* gene. *Medical Microbiology and Immunology*, 183:23-31.

SIDJABAT-TAMBUNAN H. & BENSINK J. C. (1997) - Verotoxin-producing *Escherichia coli* from the faeces of sheep, calves and pigs. *Australian Veterinary Journal*, 75, 292-293.

ULSHEN M. H. & ROLLO J. L. (1980) - Pathogenesis of *Escherichia coli* gastroenteritis in man - another mechanism. *New England Journal of Medicine*, 302:99-101.

WILSON P. R. (1993) - Management and diseases of farmed *cervidae* and other ungulates. In: Office International des Epizooties. *Comprehensive reports on technical items presented to the International Committee or to Regional Commissions*, p. 199-216.

YU J. E & KAPER J. B. (1992) - Cloning and characterization of the *eae* gene of the enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O:157:H7. *Molecular Microbiology*, 6:411-417.

# EPIDEMIOLOGIA DELLE VIROSI RESPIRATORIE NEL CAPRIOLO IN PROVINCIA DI BOLOGNA

Fenati M.\*, Guberti V.\*, De Marco M. A.\*, Martini M.\*\*

\* Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica "A. Ghigi"

\*\* Istituto di Patologia e Igiene Veterinaria. Facoltà di medicina Veterinaria. Università degli Studi di Padova.

**Riassunto** - Un'indagine sierologica condotta su 90 caprioli abbattuti nella provincia di Bologna e in una popolazione simpatica di bovini ha evidenziato nei primi una prevalenza pari al 52% per il virus parainfluenza tipo 3 (PIV 3) e al 5,6% per il virus respiratorio sinciziale bovino (BRSV), mentre nei bovini le positività sono state rispettivamente del 67,4% del 54,1%. L'analisi comparativa dei risultati mostra che il PIV 3 colpisce indifferentemente le due popolazioni, selvatica e domestica, con possibili interscambi. Il BRSV sembra riconoscere nel bovino il possibile reservoir, mentre nel capriolo si ipotizza l'esistenza di un focolaio sporadico. Contrariamente ai bovini, i caprioli non rivelano alcuna positività al virus della rinotracheite infettiva bovina (BHV 1).

**Abstract - Epidemiology of respiratory virosis in Roe deer *Capreolus capreolus* in Bologna Province.** A seroepidemiological survey has been carried out in roe deer and sympatric cattle in the Bologna province (Italy). For Roe deer the following positivity have been found: 52% for the Parainfluenzavirus type 3 virus (PIV 3) and 5.6% for the Bovine Respiratory Syncytial virus (BRSV). For cattle, results showed a 67.4% of positivity for PIV 3 and 54.1% for BRSV. Comparative analysis of results shows that PIV 3 hits indifferently both groups, the wild and the domestic, with possible reciprocal exchange among them. Sympatric cattle seem to be the reservoir of BRSV, while in roe deer infections appear more sporadically. Infectious Bovine Rhinotracheitis virus (BHV 1) in roe deer has not been observed.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 287- 290

## 1. Introduzione

L'allevamento al pascolo di bovini e ovi-caprioli, risorsa economica e tradizione culturale della zootecnia italiana, consente un frequente contatto tra ungulati domestici e selvatici, e di conseguenza un possibile interscambio di patogeni, cui le diverse specie sono recettive. Ulteriore fattore di rischio è l'aumento della densità di alcune specie selvatiche e, in particolare, del Capriolo nell'Appennino settentrionale (Toso *et al.*, 1999).

La presente ricerca è stata condotta su agenti infettivi riscontrabili con una elevata frequenza negli animali domestici allevati: il virus della rinotracheite infettiva bovina (BHV 1), il virus parainfluenza tipo 3 (PIV 3) e il virus respiratorio sinciziale bovino (BRSV), che nell'insieme costituiscono le principali *noxae* della "sindrome respiratoria" del bovino (Ballarini, 1987). Nel nostro Paese sono state eseguite numerose indagini sierologiche volte a determinare la presenza di tali infezioni nei ruminanti selvatici: in particolare nel Capriolo sono state evidenziate positività sierologiche per BHV 1 e per PIV 3 (Gennero *et al.*, 1993), mentre risultati negativi sono stati ottenuti nei confronti del BRSV (Giovannini *et al.*, 1988) e del BHV 1 (De Marco *et al.*, presente volume).

Gli scopi del presente studio sono: *i.* determinare la prevalenza sierologica di tali infezioni nei caprioli e nei bovini che condividono l'area di pascolo, ponendo a priori un'intensità di campionamento che permetta di svelare infezioni presenti in almeno il 5% della popolazione con un livello di confidenza del 99% (Cannon e Roe, 1982); *ii.* verificare quali variabili intrinseche della popolazione ospite (sesso, età, località di abbattimento) sono in grado di modificare la presenza delle infezioni; *iii.* descrivere quali rapporti epidemiologici intercorrono tra le popolazioni simpatriche di caprioli e bovini.

## 2. Materiali e metodi

### 2.1. Area di studio e raccolta dei campioni

L'area di studio, compresa nell'ATC (Ambito Territoriale di Caccia) BO3, è divisa in distretti e zone (Fig. 1); si estende in provincia di Bologna, nella vallata del fiume Santerno, nei comuni più a sud del comprensorio imolese, su una superficie di 9.107 ha, dei quali 3.308 di bosco. I caprioli censiti nella primavera 1997 ammontano a 1.123 capi, con una densità media di 13,2/100 ha); essi condividono il pascolo, per buona parte dell'anno, con bovini e ovini allevati allo stato brado. La popolazione

selvatica è sottoposta a caccia di selezione e da tale attività sono stati ottenuti i campioni di siero di 90 caprioli abbattuti nel periodo compreso tra l'agosto 1997 e il gennaio 1998. Il sangue è stato prelevato dal cuore e grossi vasi della cavità toracica, prima dell'eviscerazione. 61 campioni sono stati raccolti nel periodo estivo e 29 in quello invernale; 40 da maschi e 50 da femmine. Per effettuare una corretta determinazione dell'età sono state raccolte le mandibole dei caprioli per valutare il grado di eruzione dei denti definitivi e la loro usura (Toso *et al.*, 1991) suddividendo il campione in 4 classi d'età (Tab. 1).

**Tab. 1** - Suddivisione dei caprioli esaminati in 4 classi di età, in base al grado di eruzione e usura dei denti.

Classe d'età	Età in mesi	Numero campioni
0	0-11	9
I	12-31	36
II	32-55	34
III	>55	11

Nei mesi di gennaio e febbraio 1998, sono stati raccolti 70 sieri in allevamenti di bovini che mantengono gli animali allo stato brado in aree di pascolo comuni alla popolazione di caprioli esaminata. Il campionamento è stato stratificato in funzione della consistenza numerica dei capi presenti nei vari allevamenti. Gli animali sono stati scelti in modo casuale, escludendo i soggetti di recente introduzione.

In alcuni allevamenti vengono applicati piani di profilassi immunizzante nei confronti di virus agenti causali di sindromi respiratorie (BHV 1, PIV3, Adenovirus 3, virus della diarrea bovina e malattie delle mucose, BRSV). Non essendo tecnicamente possibile differenziare le positività vaccinali da quelle legate all'infezione naturale, la prevalenza è stata calcolata su animali sicuramente non sottoposti a vaccinazione: 61 per il BRSV e di 43 per il PIV3 e il BHV 1.

Il sangue prelevato dai bovini e dai caprioli, una volta coagulato, è stato centrifugato per 15 minuti a 1.200 rpm; il siero ottenuto è stato congelato a -20°C fino alla esecuzione dei test sierologici.

## 2.2. Esami sierologici

Si è eseguito il test ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) impiegando kit commerciali della ditta SVANOVA®: Infectious Bovine Rhinotracheitis antibody test (IBR-Ab), Bovine Respiratory Syncytial Virus antibody test (RSV-Ab), Parainfluenzavirus type 3 antibody test (PIV3-Ab).

Tali kit utilizzano un ELISA a metodo indiretto (Brocchi, 1982), basato sull'impiego di un anticorpo, coniugato con perossidasi, anti IgG di Bovino. Per poter applicare questa metodica diagnostica nel Capriolo, è stato necessario sostituire il suddetto coniugato con un anticorpo anti IgG di Cervo della Virginia (*Odocoileus virginianus*), come descritto da De Marco *et al.* (2003), e come controlli sono stati utilizzati sieri di caprioli sierologicamente positivi e negativi per le tre virosi respiratorie.

## 2.3. Analisi statistica

Per confrontare le diverse prevalenze riscontrate nei caprioli in funzione dell'età si è impiegato il test del chi quadrato ( $\chi^2$ ), mentre, per evidenziare eventuali differenze tra i sessi, si è fatto ricorso al test della probabilità esatta di Fisher.

Per confrontare le prevalenze sierologiche dei caprioli e dei bovini campionati all'interno degli stessi distretti si è utilizzato il test della probabilità esatta di Fisher. Il livello di probabilità (P) scelto è 0,05.

## 3. Risultati

Nei caprioli sono state evidenziate positività sierologiche esclusivamente per il PIV 3 e il BRSV. Per il primo la sieroprevalenza totale è del 52% (47/90). Le positività sierologiche risultano essere uniformemente distribuite in entrambi i sessi e in tutte le classi d'età (Tab. 2); inoltre l'infezione appare ugualmente diffusa nei caprioli abbat-

**Tab. 2** - Prevalenze sierologiche nei confronti del PIV3 e BRSV, evidenziate nei caprioli in funzione della classe d'età.

Classe d'età	Sieroprevalenze % per PIV 3 (positivi/totali)	Sieroprevalenze % per BRSV (positivi/totali)
0	33,3 (3/9)	22,2 (2/9)
I	50 (18/36)	2,8 (1/36)
II	58,8 (20/34)	2,9 (1/34)
III	54,6 (6/11)	9,1 (1/11)

**Tab. 3** - Prevalenze sierologiche nei confronti del PIV 3 evidenziate nei caprioli e nei bovini campionati nei vari distretti e zone. I dati riportati in grassetto sono relativi alle differenze statisticamente significative riscontrate. n.e. = non eseguito.

Distretto	Zona (Sieroprevalenze % per PIV 3)	Caprioli positivi/totali (Sieroprevalenze % per PIV 3)	Bovini positivi/totali
12a	A	7/13 (53,9)	n.e. (*)
	B	13/28 (46,4)	0/4 (0)
	C	<b>15/27 (55,6)</b>	<b>10/10 (100)</b>
	D	2/4 (50)	n.e.
12b	A	2/4 (50)	12/17 (70,6)
	C	5/8 (62,5)	7/12 (58,3)
5	-	3/6 (50)	n.e.

**Tab. 4** - Prevalenze sierologiche nei confronti del BRSV evidenziate nei caprioli e nei bovini campionati nei vari distretti e zone. I dati riportati in grassetto sono relativi alle differenze statisticamente significative riscontrate. n.e.= non eseguito.

Distretto	Zona	Caprioli positivi/totali (Sieroprevalenze % per BRSV)	Bovini positivi/totali (Sieroprevalenze % per BRSV)
12a	A	2/13 (15,4)	n.e.
	B	3/28 (10,7)	0/4 (0)
	C	<b>0/27 (0)</b>	<b>4/10 (40)</b>
	D	0/4 (0)	n.e.
12b	A	<b>0/4 (0)</b>	<b>10/17 (58,8)</b>
	C	<b>0/8 (0)</b>	<b>19/30 (63,3)</b>
5	-	0/6 (0)	n.e.

tutti nelle varie zone (Tab. 3).

Il BRSV sembra interessare in misura minore la popolazione di caprioli con una prevalenza del 5,6% (5/90). Anche per tale infezione non si sono evidenziate differenze relativamente al sesso e alle classi d'età (Tab. 2), mentre la diffusione interessa in modo esclusivo 2 aree (Tab. 4). Nei bovini sono state riscontrate positività sierologiche per PIV3, BRSV e BHV 1 con prevalenze rispettivamente del 67,4% (39/43), 54,1% (33/61) e 14% (6/43); per quest'ultimo le positività hanno interessato solo la zona 12b/A con un valore di prevalenza pari al 35,3% (6/17).

I dati relativi alla distribuzione spaziale dell'infezione sono riportati nelle tabelle 3 e 4. I risultati ottenuti dalla comparazione tra la popolazione domestica e selvatica evidenziano come la popolazione bovina mostra maggiori positività per il PIV3 solo in un'area (Tab. 3), mentre l'infezione da BRSV è di entità superiore in tre delle quattro aree esaminate (Tab. 4).

#### 4. Discussione

Il riscontro delle infezioni da PIV 3 e BRSV sia nei caprioli sia nei bovini impone alcune considerazioni, necessarie per comprendere quale specie rivesta il ruolo di serbatoio.

Per l'infezione da PIV3 sembra che le due popolazioni, domestica e selvatica, costituiscano un *continuum* epidemiologico nel quale i bovini mostrano una maggiore prevalenza, probabilmente a causa dell'effetto densità dipendente indotto dall'allevamento.

Per il BRSV la situazione appare diversa, in quanto la specie bovina sembra essere il principale serbatoio dell'infezione, mentre nel capriolo emerge l'ipotesi della presenza di un unico focolaio sporadico, sia per la limitazione spaziale entro la quale sono stati reperiti i capi positivi, sia per l'interessamento omogeneo di tutte le classi d'età.

L'infezione da BHV 1, presente solo nei bovini esaminati con prevalenze sierologicamente infe-

riori rispetto alle altre due virosi, non sembra potersi estendere alla popolazione recettiva selvatica. Tale quadro epidemiologico appare analogo a quello descritto da studi condotti in provincia di Forlì (De Marco *et al.*, 2003). Altri autori hanno segnalato nel Capriolo positività sierologiche al BHV 1 (Gennero *et al.*, 1993; Kokles, 1977; Kokles *et al.*, 1988; Pospisil *et al.*, 1996; Thiry *et al.*, 1988; Weber *et al.*, 1978) con prevalenze anticorpali piuttosto basse, che potrebbero far pensare sia a contatti insufficienti per la trasmissione, sia a scarse capacità infettanti e di diffusione del virus all'interno della popolazione di caprioli.

In conclusione, la condivisione del pascolo da parte di ruminanti selvatici e domestici costituisce un'interfaccia ecologica di possibile interscambio di alcuni patogeni. In questo contesto, cresce l'esigenza di una specifica attività di ricerca che abbia come scopo la precisa definizione del ruolo che ogni specie recettiva svolge nell'epidemiologia di tali infezioni.

### Bibliografia

- BALLARINI G. (1987) - *Malattie respiratorie dei bovini*. Ed. Calderini, Bologna.
- BROCCHI E. (1982) - La tecnica ELISA e le sue applicazioni nella diagnostica veterinaria. *Selezione veterinaria*, 23: 113-127.
- CANNON R. M. & ROE R. T. (1982) - *Livestock disease surveys: a field manual for veterinarians*. Australian Government Publishing Service, Canberra.
- DE MARCO M. A., ZAMBONI L., BARCHETTI A., RAGANELLA PELLICIONI E. & GUBERTI V. (2003) - Indagine sierologica sulle principali virosi respiratorie del Capriolo nell'Appennino Forlivese. *J. Mt. Ecol.* 7(Suppl.):XX-XX
- GENNERO M. S., MENEGUZ P. G., MANDOLA M. L., MASOERO L., DE MENEGHI D. & ROSSI L. (1993) - Indagini sierologiche su ruminanti selvatici in Piemonte. *Atti S. I. S. Vet.*, XLVII: 65-69.
- GIOVANNINI A., CANCELOTTI F.M. & GUBERTI V. (1988) - Ricerca di anticorpi nei confronti del virus respiratorio sinciziale bovino (BRVS) in cervidi e bovidi selvatici in Italia. *Atti S. I. S. Vet.*, XLII: 763-765.
- KOKLES R. (1977) - Untersuchungen zum nachweis von IBR/IPV antikörpern bei verschiedenen haus und wildtieren sowie beim. *Menchen Monatshefte für Veterinärmedizin*, 32 (5): 170-171.
- KOKLES R., DEDEK J. & LOEPELMANN H. (1988) - Serologische untersuchungen auf infektionen mit dem Virus der infektiösen bovinen Rhinotracheitis/ infektiösen pustulösen Vulvovaginitis und dem Parainfluenza 3 virus bei Rot-, Reh-, Dam- und Muffel-wild. *Menchen Monatshefte für Veterinärmedizin*, 43: 60-63.
- POSPISIL Z., VYRLECK R., CIHAL P., LANY P. & ZENDULKOVA D. (1996) - Prikaz protilatek herpesvirum vserech jelena europskego (*Cervus elaphus*) importovaneno do Ceske Republiky. *Veterinarni Medicina*, 41 (9): 279-282.
- THIRY E., VERCOUTER M., DUBUISSON J., BARRAT J., SEPULCHRE C., GERARDY C., MEERSSCHAERT C., COLLIN B., BLANCOU J. & PASTORET P. P. (1988) - Serological survey of herpesvirus infections in wild ruminants of France and Belgium. *Journal of Wildlife Diseases*, 24 (2): 268-273.
- TOSO S., APOLLONIO M., GUBERTI V., & GIOVANNINI A. (1991) - *Biologia e conservazione degli Ungulati alpini*. Editrice Parco Naturale della Val Tronca.
- TOSO S., PEDROTTI L. & DUPRE' E. (1999) - Status and management of the ungulates in Italy. *Proceedings of the XXIV Congress of International Union of Game Biologists, Thessaloniki, Greece, 20-24 September 1999*.
- WEBER A., PAULSEN J. & KRAUSS H. (1978) - Seroepidemiologische untersuchungen zum vorkommen von infektiöskrankheiten bei einheimischen schalenwild. *Der praktische Tierarzt*, 59 (5): 353-358.

# INFESTAZIONE DA *ASCARIDIA COMPAR* (SCHRANK, 1790) NELLA COTURNICE ALPINA: EFFETTI SULL'OVODEPOSIZIONE E SU ALCUNI VALORI EMATOCHIMICI

Rizzoli A.\*, Rosso F.\*, Ferrari N.\*, Rosà R.\*, Farrè L.\*, Manfredi M. T.\*\*\*, Hudson P.J.\*\*\*

\* Centro di Ecologia Alpina, Viote del Monte Bondone, 38040 Trento, Italia

\*\* Istituto di Patologia Generale Veterinaria, Università di Milano, 20133 Milano, Italia

\*\*\* Unit of Wildlife Epidemiology, Department of Biology and Molecular Sciences, University of Stirling, FK94LA, Scotland

**Riassunto** - Il potenziale impatto di *Ascaridia compar* sulla fertilità della Coturnice alpina *Alectoris graeca saxatilis*, specie in declino sulla maggior parte delle Alpi italiane, è stato studiato attraverso il confronto del successo di schiusa delle uova deposte da 10 femmine sperimentalmente infestate con *A. compar* rispetto a quello di un gruppo di controllo. Sono stati altresì determinati i livelli di glucosio, colesterolo, trigliceridi, proteine, acido urico e albumine di cinque soggetti infestati con la stessa specie elmintica, rispetto a quelli di cinque soggetti di controllo. La percentuale del successo di schiusa è risultata statisticamente inferiore (Chi quadro,  $p < 0.01$ ) nei soggetti infestati (23%) rispetto ai soggetti non infestati (51%). Tra i valori ematochimici, i livelli di proteine e colesterolo sono risultati statisticamente inferiori ( $\lambda$  di Wilks=0.19,  $p < 0.01$ ) nei soggetti infestati rispetto ai soggetti non infestati. Il livello d'infestazione sperimentale ottenuto (range: 2-40) è risultato sovrapponibile a quello riscontrato in soggetti abbattuti durante il prelievo venatorio in Trentino (range: 1-27), in popolazioni dove sono state riscontrate fluttuazioni cicliche.

**Abstract - Infection of *Ascaridia compar* (Schrank, 1790) in Rock partridge (*Alectoris graeca saxatilis*): effects on egg hatching and some ematochemical parameters.** The potential impact of *Ascaridia compar* on the fecundity of Rock partridge (*Alectoris graeca saxatilis*), a species declining in most of its Alpine range of distribution, has been studied by comparing the hatching success of a group of 10 captive rock partridge experimentally infected with *A. compar* with that of a control group. Serum level of cholesterol, glucose, triglycerids, proteins, uric acid and albumins were determined in another group of 5 individuals experimentally infected compared with that of a control group. The hatching success was significantly lower (23%) in the infected birds than in the controlled ones (51%). A significant reduction of serum cholesterol and proteins was also observed in the infected birds. The intensity of infection obtained experimentally (range: 2-40) was similar to that observed in Rock partridges collected by hunters within the Trentino region (range: 1-27) where cyclic fluctuations in abundance of some populations were observed.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 291- 294

## 1. Introduzione

La Coturnice (*Alectoris graeca saxatilis*, Bechstein, 1805) è una specie in generale declino sulle Alpi. Come cause principali di questo processo sono stati indicati i criteri di gestione della specie e le modificazioni d'uso del territorio montano (Bernard Laurent e De Franceschi, 1994; Meriggi *et al.*, 1998). Il ruolo sostenuto dagli agenti patogeni invece è stato meno indagato, nonostante questa specie possa essere recettiva a numerose infezioni. I nematodi parassiti dell'apparato gastrointestinale, ad esempio, sono ampiamente diffusi ma il loro impatto sui tassi vitali della specie risulta ancora poco conosciuto (Rizzoli *et al.*, 1997).

In Trentino, le popolazioni di Coturnice presentano un generale trend di tipo negativo accompagnato dalla tendenza a fluttuare in modo ciclico nelle aree a clima più secco (<1000 mm di pioggia annui) della provincia (Cattadori *et al.*, 1999). *Ascaridia compar* (Schrank, 1790) è

risultata essere la specie più frequente ed abbondante in un campione di 87 coturnici abbattute durante le stagioni venatorie 1994-1995. La prevalenza ed abbondanza d'infestazione sono risultate più elevate nei soggetti prelevati da popolazioni che presentano una dinamica di tipo ciclico con tendenza ad un maggior grado d'infestazione delle femmine (Rizzoli *et al.*, 1999). L'integrazione di dati empirici in modelli matematici ha dimostrato come i parassiti possano destabilizzare il numero di ospiti e generarne fluttuazioni cicliche quando esistono nel sistema ospite-parassita alcune condizioni specifiche. In particolare quando l'impatto del parassita è più marcato sulla fertilità che non sulla mortalità dell'ospite, quando presenta una distribuzione *random* nella popolazione e quando possiede stadi infestanti in ambiente esterno di lunga durata (May e Anderson, 1978; Dobson & Hudson, 1992; Hudson & Dobson, 1995). Numerosi studi condotti sul sistema

*Trichostrongylus tenuis*- pernice bianca di Scozia (*Lagopus lagopus scoticus*) hanno permesso di dimostrare anche dal punto di vista empirico come l'effetto di riduzione della fertilità indotta dal parassita possa essere correlato a fluttuazioni cicliche nelle popolazioni ospiti e come l'eliminazione sperimentale del parassita dal sistema possa ridurre la tendenza della popolazione a fluttuare (Hudson *et al.*, 1992; Hudson & Dobson, 1995; Hudson *et al.*, 1998).

Per determinare le possibili conseguenze dell'infestazione da *A. compar* sulla dinamica delle popolazioni di Coturnice sono state effettuate delle indagini sperimentali finalizzate allo studio dell'impatto esercitato da *A. compar* sui tassi vitali di soggetti di allevamento. In questo lavoro vengono presentati alcuni risultati relativi alle modificazioni indotte dall'infestazione parassitaria sul successo riproduttivo e su alcuni valori ematochimici.

## 2. Materiali e metodi

Venti femmine di Coturnice alpina allevate presso il Centro di Ecologia Alpina sono state poste in coppia con un maschio ciascuna in singole gabbie di riproduzione previo controllo qualitativo delle feci al fine di escludere eventuali infestazioni parassitarie. Ad un campione di dieci femmine sono quindi state somministrate 40 uova embrionate di *A. compar* per tre volte ad intervalli di 48 ore. L'infestazione sperimentale è stata effettuata 20 giorni prima della data presunta di inizio dell'ovodeposizione. Il successo e l'intensità d'infestazione (uova per grammo di feci) sono stati valutati attraverso analisi quali-quantitative delle feci con camera di Mc Master.

Le uova utilizzate per l'infestazione sperimentale sono state prelevate da femmine di *A. compar* emesse con le feci da coturnici infestate dopo trattamento antielmintico con fenbendazolo somministrato in dose di 100 mg/kg per via orale. I parassiti mostravano ancora movimenti spontanei indice della loro vitalità. Previa sezione longitudinale sono stati estratti gli uteri dai parassiti che sono stati frazionati in soluzione fisiologica e posti in piastra di Petri. La soluzione così ottenuta è stata mantenuta a temperatura ambiente sino alla formazione della larva infestante all'interno dell'uovo, avvenuta dopo un periodo medio di 40 giorni.

Le uova deposte da ogni femmina di Coturnice sono state poste in incubatrice a 37° con il 45% di umidità relativa sino alla schiusa (in media 23,5 giorni di incubazione). Per ciascun individuo sono stati registrati: il numero delle

uova deposte, le dimensioni, il peso ed il successo di schiusa. Si è quindi considerato un ulteriore campione di dieci esemplari adulti di coturnice alpina, dei quali cinque soggetti sono stati infestati secondo la tecnica precedentemente descritta. Una volta accertato il successo di infestazione tramite esame copromicroscopico quali-quantitativo, i soggetti sono stati sottoposti, ogni 15 giorni, a prelievi di sangue venoso dalla vena radiale, per un totale di cinque prelievi. Sul siero sono stati analizzati i valori di glucosio, colesterolo, trigliceridi, proteine, albumine, acido urico e fosfatasi alcalina, utilizzando reagenti Sera Pack Bayer per spettrofotometro Quick Lab. L'intensità d'infestazione è stata valutata attraverso il conteggio dei parassiti adulti rinvenuti nelle feci emesse nei 5 giorni successivi ad un trattamento antielmintico con somministrazione per via orale di fenbendazolo alla dose di 100 mg/kg pv.

Per confrontare le percentuali relative ai parametri di ovodeposizione ed al successo di schiusa delle uova dei soggetti infestati e di quelli di controllo è stato eseguito un test del Chi quadro con correzione di Yates, mentre per valutare la differenza tra le medie dei valori relativi ai valori ematochimici è stata eseguita l'analisi della varianza multivariata (MANOVA) a disegni nidificati.

## 3. Risultati

Nell'analisi finale dei dati relativi al successo riproduttivo sono stati considerati i parametri riproduttivi di sette delle femmine infestate ed otto di quelle non infestate. Tra le variabili monitorate solo il successo di schiusa è risultato significativamente inferiore (Chi quadro Yates corretto = 13.7,  $p < 0.001$ ) nelle femmine infestate (23%) rispetto alle femmine di controllo (51%). Non sono invece state riscontrate differenze significative nel numero di uova deposte, nelle loro dimensioni e nel loro peso medio.

Tra i valori ematochimici, i livelli di colesterolo e proteine sono risultati statisticamente inferiori (L di Wilks=0.19,  $p < 0.01$ ) nei soggetti infestati (colesterolo=95.2 ± 4.6 mg/dl; proteine=4.2 ± 0.17 g/dl) rispetto ai soggetti non infestati (colesterolo=119.5 ± 4.8 mg/dl; proteine=4.5 ± 0.15 g/dl) (Tabella 1).

Relativamente al grado d'infestazione, nei soggetti monitorati per lo studio degli effetti dell'infestazione sull'ovodeposizione, è stato riscontrato un valore medio di uova per grammo di feci (media=907.7, S.E.=63.4) inferiore rispetto a quello riscontrato nei soggetti utilizzati per il calcolo dei valori ematochimici (media=4288.5,

S.E.=404.8) ( $F_{1,149}=214.16$ ,  $p<0.001$ ), ad indicazione di un più basso livello d'infestazione (dati non pubblicati). In questi ultimi il grado d'infestazione medio è risultato di  $25.6 \pm 6.4$  con range da 2 a 40 parassiti adulti. Tale valore risulta confrontabile con quello riscontrato nei soggetti abbattuti, durante le stagioni venatorie 1994-1995, nelle zone del Trentino dove la dinamica di popolazione della Coturnice presenta un comportamento di tipo ciclico (range: 1-27) (Rizzoli et al., 1999).

#### 4. Discussione

I soggetti di Coturnice sperimentalmente infestati con *A. compar* hanno presentato una minor capacità riproduttiva ed, in particolare, una ridotta capacità di schiusa delle uova, rispetto ai soggetti non infestati. Nei soggetti infestati è stata inoltre riscontrata una riduzione dei livelli sierici di colesterolo e proteine. Questi risultati, assimilabili a quanto riscontrato in polli domestici infestati con *A. galli* (Soulsby, 1982), possono essere attribuiti ad un'azione spogliatrice di *A. compar* a livello intestinale, con conseguenze sul metabolismo lipidico e proteico. La riduzione delle proteine totali e del colesterolo comporta una ridotta stimolazione della sintesi delle proteine oviduttali, con riduzione di peso del tuorlo e dell'albume (Whitehead et al., 1993). Indagini condotte nel pollo domestico e nel tacchino hanno inoltre evidenziato che i livelli sierici di proteine e colesterolo dipendono direttamente anche dalle concentrazioni di estrogeni, ormoni che regolano l'attività riproduttiva (Martin et al., 1981; Whitehead et al., 1993). L'infestazione con *A. compar* potrebbe quindi anche comportare effetti sul sistema immunitario con conseguente riduzione degli steroli ematici, come osservato in fagiani infestati con *Heterakis* sp. (Woodburn, 1993). Tale ipotesi dovrà comunque essere verificata sperimentalmente.

I risultati sinora conseguiti, sebbene si riferiscono a studi condotti su soggetti in cattività, forniscono un primo supporto sperimentale all'i-

potesi che *A. compar* sia in grado di influenzare il potenziale riproduttivo della Coturnice e di esercitare un effetto negativo sul metabolismo dei soggetti parassitati, anche con livelli d'infestazione contenuti. In particolare la capacità di influenzare negativamente il potenziale riproduttivo assume particolare interesse, considerato che questo parametro condiziona a lungo termine la dinamica di popolazione dell'ospite. Di fatto, la riduzione di fertilità indotta dal parassita all'ospite rappresenta una delle condizioni di destabilizzazione del sistema ospite-parassita con conseguenti dinamiche di tipo ciclico (May & Anderson, 1978; Dobson & Hudson, 1992; Hudson & Dobson, 1995), come quelle osservate in alcune popolazioni di Coturnice del Trentino (Cattadori et al., 1999). Ulteriori indagini risultano comunque necessarie soprattutto per determinare le relazioni tra intensità di infestazione ed effetti fisiopatologici, nonché per individuare il valore di alcuni parametri relativi all'interazione ospite-parassita utili ad una miglior comprensione degli effetti dell'infestazione a livello di dinamica di popolazione.

#### 5. Ringraziamenti

Si ringraziano tutti coloro che hanno collaborato alla presente indagine. In particolare i Sig.ri Sergio Merz e Stefano Maffei e il Centro Casteller dell'Associazione Cacciatori della Provincia Autonoma di Trento.

#### Bibliografia

- BERNARD LAURENT A. & DE FRANCESCHI P. F. (1994) - Statut, évolution et facteurs limitant les population de perdrix bartavelle (*lectoris graeca*): synthèse bibliographique. In: plans de restauration pour quelques galliformes européens: la gelinotte des bois, le grand tétras, le tétras lyre et la perdrix bartavelle. *Gibier faune sauvage*, Game wild. Hors série vol. 1 Office Nat. Chasse, Paris.
- CATTADORI I. M., HUDSON P.J., MERLER S. & RIZZOLI A. (1999) - Synchrony, scale and temporal dynamics of rock partridge populations in the Dolomites. *Journal of Animal Ecology*, 68: 540-549.
- DOBSON A. P. & HUDSON P.J. (1992) - Regulation and

**Tab. 1** - Valori ematochimici riscontrati in coturnici infestate con *A. compar* e in soggetti di controllo non infestati.

	Glucosio (mg/dl)	Colesterolo (mg/dl)	Trigliceridi (mg/dl)	AP U/l	Proteine (g/dl)	Acido urico (mg/dl)	Albumine (g/dl)
Infestati	366.4	95.2	133.7	1356.5	4.2	5.2	1
Non Infestati	388.7	151.6	1243.3	4.5	6.5	1.2	
P-level	NS	P < 0.01	NS	NS	P < 0.05	NS	NS

- stability of a free-living host parasite system - *Trichostrongylus tenuis* in red grouse. In: Population models. *Journal of Animal Ecology*, 61: 487-498.
- HUDSON P.J., NEWBORN D. & DOBSON A. P. (1992) - Regulation and stability of a free-living host parasite system - *trichostrongylus tenuis* in red grouse 1. Monitoring and parasite reduction experiment. *Journal of animal ecology*, 61: 477-486.
- HUDSON P.J. & DOBSON A. P. (1995) - Macroparasites: observed pattern in naturally fluctuating animal populations. In: *Ecology of infectious diseases in natural populations* (Grenfell & Dobson, Eds). Cambridge University Press, pp. 144-176.
- HUDSON P.J., DOBSON A.P. & NEWBORN D. (1998) Prevention of population cycles by parasite removal. *Science*, 282: 2256-2258.
- MAY R.M. & ANDERSON R.M. (1978) - Regulation and stability of host-parasites population interactions. In.: Destabilising processes. *Journal of Animal Ecology*, 47: 249-267.
- MARTIN, M. R., LISANO M. E. & KENNAMER J. E. (1981) - Plasma estrogens, total protein and cholesterol in the female eastern turkey. *Journal Wildlife Magement*, 45(3): 798-802.
- MERIGGI A., PANDINI W., SACCHI O., ZILIANI U. & FERLONI M. (1998) - Fattori influenzanti la presenza e la dinamica di popolazione della coturnice (*Alectoris graeca saxatilis*) in Trentino. *Report Centro Ecologia Alpina*, 15: 5-36.
- RIZZOLI A., MANFREDI M. T., ROSSO F., ROSÀ R., CATTADORI I. M. & HUDSON P. J. (1997) - A survey to identify the important macroparasites of rock partridge (*Alectoris graeca saxatilis*) in Trentino, Italy. *Parassitologia*, 39: 331-334.
- RIZZOLI A., MANFREDI M.T., ROSSO F., ROSÀ R., CATTADORI I.M. & HUDSON P.J. (1999) - Intensity of nematode infection in cyclic and non cyclic rock partridge (*Alectoris graeca saxatilis*) populations. *Parassitologia*, 4: 561-565.
- SOULSBY E.J.L. (1982) - *Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals*. Baillière Tindall-London pp.809.
- WHITEHEAD C., BOWMAN A. S. & GRIFFIN H. D. (1993) - Regulation of plasma oestrogen by dietary fats in the laying hen: relationships with egg weight. *British Poultry Science*, 34: 999-1010.
- WOODBURN M.I.A., 1993. 'How do parasites affect pheasant breeding success?'. *Game Cons. Ann. Rev.* 24: 86-87.

# RECUPERO DI FAUNA SELVATICA NELLA PROVINCIA DI TRIESTE NEL TRIENNIO 1994 -1996 (MAMMALIA - AVES)

Zucca P.\*, Oberosler R.\*, Benussi E.\*\*

\* Facoltà di Medicina Veterinaria, Univ. degli Studi di Udine, Viale delle Scienze 208 -33100 Udine

\*\* Osservatorio Faunistico della Provincia di Trieste, Via A. Grego 35 - 34148 Trieste

**Riassunto** - La problematica del recupero/riabilitazione della fauna selvatica è maggiormente sentita nelle Province dove l'impatto antropico sull'ambiente è elevato. L'esame degli archivi degli Enti e delle Associazioni che provvedono al recupero e alla riabilitazione di fauna selvatica nella provincia di Trieste ha evidenziato che il numero di animali recuperati ogni anno è in continua crescita. Una possibile soluzione al problema consiste nella realizzazione di Centri di recupero della fauna selvatica. Tali strutture avrebbero il compito di monitorare lo stato sanitario della fauna selvatica con delle ripercussioni positive non solo sulla salute delle popolazioni animali, ma anche sulla salute pubblica.

**Abstract** - *Rescue of wild fauna in the Trieste Province during 1994-1996 (Mammalia - Aves)*. The problem regarding rescue/rehabilitation of wildlife tends to be more deeply felt in areas in which the anthropical impact on the environment is greatest. Records of the institutions and Associations in the Province of Trieste involved in the rescue and rehabilitation reveal that more and more animals are being saved every year. A possible solution to the problem could be to set up Wildlife Rehabilitation Centres whose duty would be to monitor the state of health of the wildlife. This would have a positive effect not only on the health of the animal population, but on that of the public as well.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 295- 298

## 1. Introduzione

La provincia di Trieste nella pur limitata estensione del suo territorio (211 km<sup>2</sup>), presenta ancora ambienti di notevole valore naturalistico. Procedendo dalla linea di costa fino all'altopiano carsico si trovano infatti paesaggi interessanti caratterizzati da una estrema biodiversità territoriale, che si accompagna ad una notevole ricchezza faunistica.

L'elevata pressione antropica, esercitata su questo lembo di territorio, rende spesso la convivenza tra uomo e animali selvatici piuttosto difficile. Infatti il numero e le specie di selvatici rinvenuti feriti, ammalati o semplicemente in difficoltà nella provincia di Trieste sono elevati, e le richieste di intervento per recuperare specialmente ungulati, mammiferi di piccola taglia, rapaci diurni e notturni, aumentano di anno in anno (Zucca, 1997a).

## 2. Materiali e metodi

Sono stati analizzati i dati forniti dai tre Enti operanti nella provincia di Trieste, che provvedono al recupero della fauna selvatica in difficoltà: la Provincia di Trieste, Settore Sviluppo Economico e Tutela Ambientale - Unità Operativa Agricoltura Caccia e Pesca, tramite i Guardiacaccia Provinciali e l'Ente Nazionale Protezione Animali (ENPA) - Sezione di Trieste, attraverso le Guardie Giurate Zoofile e

la Federazione Italiana della Caccia - Sezione Provinciale di Trieste, con i Guardiacaccia volontari.

I dati presenti negli archivi della Provincia e dell'ENPA, non erano omogenei, ovvero:

a) L'archivio della Provincia riportava la data di recupero, la specie, l'età, il peso, la causa del decesso, il referto dell'eventuale analisi anti-rabbica e l'eventuale incenerimento.

Solamente a partire dal Febbraio 1996 vengono forniti dati in merito alla destinazione degli animali recuperati vivi (reintroduzione, eutanasia, etc). Sono stati esaminati gli archivi degli anni '94-'95-'96, ognuno dei quali suddiviso in varie sezioni relative alle 13 Riserve di Caccia, più una Riserva indicata come "Riserva 0 - Zona Urbana".

b) L'archivio dell'ENPA riportava, ai fini di ottemperare agli obblighi di legge sulla detenzione di fauna selvatica, anche altre informazioni tra le quali la destinazione degli animali recuperati. Sono stati esaminati tutti i rapporti di servizio relativi agli anni '94 - '95 - '96, che sono circa 3.500 per anno, extrapolando quelli relativi al recupero di fauna selvatica.

## 3. Risultati

I risultati ottenuti vengono riportati in maniera grafica (Fig. 1) e sotto forma di tabelle (Tabb. 1, 2, 3).

### 3.1. Analisi dei dati

#### Mammiferi

- i. Il numero di mammiferi recuperati ogni anno è in aumento.
- ii. I mammiferi che più di frequente vengono recuperati sono i caprioli (66% di tutti i mammiferi), le volpi, i mustelidi e i cinghiali.
- iii. Esiste una differenza tra le specie di mammiferi recuperate dai Guardiaccia Provinciali e dalle Guardie Venatorie (alta prevalenza di caprioli, volpi, cinghiali, mustelidi) e quelle recuperati dalle Guardie Zoofile (alta prevalenza di mammiferi di piccola taglia come, ad esempio, ricci).
- iv. Esiste una differenza tra il numero di mammiferi selvatici recuperati dai Guardiaccia Provinciali e dalle Guardie Venatorie (elevato) ed il numero di mammiferi recuperati dall'ENPA (basso).
- v. Dati lievemente sottostimati.

#### Uccelli

- i. Il numero di uccelli recuperati è in crescita.
- ii. Gli uccelli che più di frequente vengono recuperati sono i piccioni, i gabbiani (quasi esclusivamente il Gabbiano reale) ed i rondoni seguiti da altre specie, alcune delle quali ad elevato valore biologico (es. Astore, Gufo reale, etc.).
- iii. Esiste una differenza tra il numero di uccelli recuperati dai Guardiaccia e dalla Guardie Venatorie (basso) ed il numero di uccelli recuperati dalle Guardie Zoofile (molto elevato).
- iv. Dati estremamente sottostimati.

### 4. Discussione

Da quanto riportato in precedenza risulta che l'attività di recupero di fauna selvatica da parte degli Enti (Provincia, Federazione Italiana della Caccia, ENPA), che operano in provincia di Trieste, sia piuttosto diversificata e quasi complementare.

Per quanto riguarda il recupero di mammiferi selvatici, si nota come esso rappresenti l'attività prevalente dei Guardiaccia Provinciali e delle Guardie Venatorie, i quali intervengono soprattutto su mammiferi di grossa taglia ed in particolare sul Capriolo. Le Guardie Zoofile invece intervengono più di frequente su mammiferi di piccola taglia, anche se il numero di mammiferi selvatici recuperati dall'ENPA risulta piuttosto basso.

I dati relativi al recupero di mammiferi selvatici possono venire considerati abbastanza reali ed indicativi della situazione provinciale, in quanto, pur con notevoli difficoltà, gli Enti di cui sopra, riescono a far fronte a quasi tutte le richieste di intervento.

Per quanto riguarda il recupero di avifauna, il discorso è esattamente l'opposto. Esso rappresenta una attività secondaria per i Guardiaccia (impegnati sul fronte dei mammiferi di grossa taglia non sono in grado di far fronte a tutte le richieste di intervento sull'avifauna), mentre impegna in maniera notevole le Guardie Zoofile dell'ENPA (Zucca, 1997a).

Un reale incremento del recupero di fauna selvatica in difficoltà ha evidenziato la necessità di realizzare strutture idonee all'accoglimento,

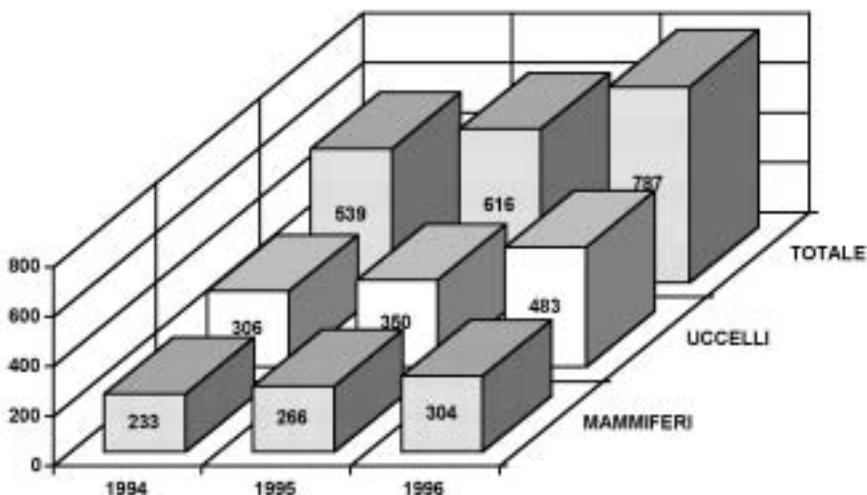


Fig. 1 – Recupero di fauna selvatica (Mammiferi e Uccelli) nella provincia di Trieste nel triennio '94-'96 (dati Provincia di Trieste, Enpa di Trieste)

**Tab. 1** - Recupero di fauna selvatica (Mammiferi e Uccelli) nella provincia di Trieste nel triennio '94-'96 (dati Provincia di Trieste, ENPA di Trieste)

ANNO	CLASSE	NUMERO	SUBTOTALE
1994	Mammiferi	233	
	Uccelli	306	
			539
1995	Mammiferi	266	
	Uccelli	350	
			616
1996	Mammiferi	304	
	Uccelli	483	
			787
TOTALE			1.942

**Tab. 2** - Numero medio annuale recuperi di fauna selvatica nella provincia di Trieste, triennio '94-'96

CLASSE	
Mammiferi	268
Uccelli	380
Mammiferi ed uccelli	647

**Tab. 3** - Percentuale di incremento dei recuperi di fauna selvatica nella provincia di Trieste; anno '94 vs '96

CLASSE	% INCREMENTO RECUPERI
Mammiferi	> 30%
Uccelli	> 57%
Mammiferi ed uccelli	> 44%

al monitoraggio sanitario e all'eventuale reintroduzione in natura degli animali selvatici feriti. Una delle possibili soluzioni viene fornita dal legislatore il quale indica nei Centri di Recupero della Fauna Selvatica, gestiti dagli Osservatori Faunistici provinciali (cfr. Appendice I - L. 157/92 e L.R. 24/96, art. 21, comma 1, 2, 3), le strutture operative idonee fare fronte a questo problema (Zucca, 1998). La figura del veterinario risulta di primaria importanza nella progettazione e nella gestione dei centri di recupero, i quali hanno come obiettivi primari non solo il recupero, ma anche il monitoraggio sanitario della fauna selvatica e di conseguenza permettono di valutare lo stato di salute dell'ecosistema (Oberosler, 1997; Gandini, 1996; Zucca, 1992; Zucca, 1996; Petrucco e Benussi, 1997; Zucca, 1997b).

## 5. Ringraziamenti

Si ringraziano la Provincia di Trieste, Settore Sviluppo Economico e Tutela Ambientale - Unità Operativa Agricoltura Caccia e Pesca (Guardiacaccia Provinciali), l'Ente Nazionale Protezione Animali - Sezione di Trieste (Guardie Giurate Zoofile), la Federazione Italiana della Caccia Sezione Provinciale di Trieste (Guardiacaccia Volontari), per aver messo a disposizione i dati relativi al recupero di fauna selvatica nella provincia di Trieste e il Dr. Mauro Delogu per i suggerimenti forniti.

## Bibliografia

GANDINI G. (1996) - Il recupero della fauna selvatica autoctona: le motivazioni per la stesura di linee guida. In: Spagnesi M., Guberti V., De Marco M.A. (eds.), Atti del Convegno Nazionale di Ecopato-

- logia della fauna selvatica. *Suppl. Ric. Biol. Selv.*, XXIV: 705-713.
- IORIO A. (1996) - La normativa regionale sui Centri di recupero dell'avifauna selvatica. *Obiettivi e Documenti Veterinari*, 2: 63-67.
- OBEROSLER R. (1997) - Gli animali selvatici come bioindicatori: spunti di riflessione. *Agribusiness, Management & Environment*, 4: 63.
- PETRUCCO R. & BENUSSI E. (1997) - Piano Faunistico della provincia di Trieste. Rapp. inedito, Amministrazione Provinciale di Trieste. VII Allegati.
- ZUCCA P. (1992) - *Struttura di un Centro di Riabilitazione e Riproduzione per Animali selvatici*. Tesina di Laurea. Istituto di Clinica Medica, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma.
- ZUCCA P. (1996) - Centri di Recupero della fauna selvatica. In: Mathema (a cura di), *Atti corso C.E.E. F.S.E. N° 134 di specializzazione per Medici Veterinari* in "Gestione sanitaria di specie aviarie a elevato valore biologico. Comune di Ferrara - Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Bologna, Ferrara.
- ZUCCA P. (1997a) - *Recupero di fauna selvatica nella Provincia di Trieste*. Rapp. inedito al Comitato Provinciale della Caccia di Trieste.
- ZUCCA P. (1997b) - L'utilizzo degli animali selvatici come bioindicatori. *Agribusiness, Management and Environment*, 4: 54-62.
- ZUCCA P. (1998) - Linee Guida per la realizzazione di un Centro di recupero della fauna selvatica. In: *Piano Faunistico della Provincia di Udine*. Amministrazione provinciale di Udine, Vol. II: 143-161.

### Appendice I: richiami normativi

Per ulteriori dati sulla situazione nazionale si rimanda a quanto riportato da Iorio (1996).

Legge	Centri di Recupero della fauna selvatica
L. 157/92	<p>Norme per la protezione della fauna selvatica omeoterma e per il prelievo venatorio.</p> <p>Art. 4, comma 6</p> <p>Le Regioni emanano norme in ordine al soccorso, alla detenzione temporanea e alla successiva liberazione di fauna selvatica in difficoltà.</p>
L.R. 24/96	<p>Norme in materia di specie cacciabili e periodi di attività venatoria ed ulteriori norme modificative ed integrative in materia venatoria e di pesca di mestiere.</p> <p>Art. 21 comma 1, 2, 3</p> <p>1. In attuazione dell'articolo 4, comma 6, della L. 157/1992, i Comitati Provinciali della caccia gestiscono, tramite gli Osservatori Faunistici di cui alla legge regionale 46/1984, centri di recupero per il soccorso della fauna in difficoltà.</p> <p>2. Ai fini di cui al comma 1 i Comitati provinciali della caccia possono altresì stipulare convenzioni con centri gestiti da enti scientifici o da associazioni venatorie o protezionistiche o agricole, ovvero da medici veterinari, da agricoltori o da altri soggetti privati, disciplinandone l'attività relativa al ricevimento, al mantenimento ed alla liberazione degli esemplari recuperati.</p> <p>3. Per centro di recupero si intende una struttura destinata alla cura, alla riabilitazione ed al reinserimento nell'ambiente naturale della fauna selvatica in difficoltà, dotata di attrezzature tali da garantire con efficacia l'espletamento delle tre fasi suddette.</p>

# PROTOSTRONGYLUS PULMONALIS IN UNA LEPRE VARIABILE: PRIMA SEGNALEZIONE IN ITALIA

Battisti A.\*, Di Paolo M.§, Carlevaro L.°, Di Guardo G.\*

\* Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Vias Appia Nuova, 1411, 00178, Roma

§ Via G. Chiovenda, 106, 00173, Roma

° Via A. Moro, 35, Castelgandolfo, Roma

**Riassunto** - In un maschio adulto di lepre variabile (*Lepus timidus L.*) ucciso durante la stagione venatoria nel versante agordino del Monte Civetta (BL) furono rilevate lesioni di polmonite verminosa in circa il 20% del parenchima. Gli adulti furono identificati come *Protostrongylus pulmonalis*. Questa sembra trattarsi della prima segnalazione di protostrongilosi nella lepre variabile della popolazione alpina. Ulteriori approfondimenti, in termini di prevalenza e severità di lesioni osservate nei soggetti colpiti, potrebbero essere inclusi in uno screening di valutazione dello status sanitario di questa popolazione, attraverso una raccolta razionale di reperti venatori che possano contribuire a chiarire se e come alcune malattie siano coinvolte nel suo lento e costante declino.

**Abstract** - **Pulmonary protostrongylosis in a mountain hare from north-eastern Italy.** Diffuse nodular lesions of verminous pneumonia, affecting approximately 20% of parenchyma, were observed in an adult male mountain hare (*Lepus timidus L.*), shot on the slopes of Mount Civetta (Eastern Alps), Veneto, north-eastern Italy. Adult helminths were collected and male specimens identified as *Protostrongylus pulmonalis*. Histologically, the most relevant features of the affected area were nodules with interstitial pneumonia. This is the first recorded case of protostrongylosis in Italian mountain hares and from an alpine population. Further investigations, in terms of prevalence estimation and extension of lesions in the affected individuals could be an additional tool in assessing whether micro- or macro-parasites could be involved in the decline of the alpine population of mountain hare.

J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 299 - 301

## 1. Introduzione

La lepre variabile (*Lepus timidus L.*) è un lagomorfo presente nelle regioni più settentrionali dell'Eurasia (Scandinavia, Isole Faeroes, Scozia, Irlanda, Nord Est Europa) e, con una popolazione relitta, nell'arco alpino dove si rinviene generalmente tra i 1200 e i 3000 m. di quota, scendendo ad altitudini inferiori durante l'inverno. La forma alpina si è evoluta attraverso l'isolamento geografico dalle popolazioni settentrionali, è più piccola ed ha orecchie più lunghe della sottospecie nominale (Bjarvall & Ullstrom, 1986; Toschi, 1965; Spagnesi & Trocchi, 1992), al punto da essere indicata come sottospecie distinta, *L. timidus varronis* (Miller, 1901).

Il suo areale di distribuzione può, sia nelle popolazioni nordiche che in quelle alpine, sovrapporsi parzialmente con quello della lepre comune (*L. europaeus Pallas*).

## 2. Materiali e metodi

Nell'ottobre del 1996, durante la stagione di caccia, un maschio adulto di lepre variabile fu abbattuto sul versante della Valle Agordina del Monte Civetta (BL). Al momento dell'eviscerazione, come unico rilievo patologico, fu

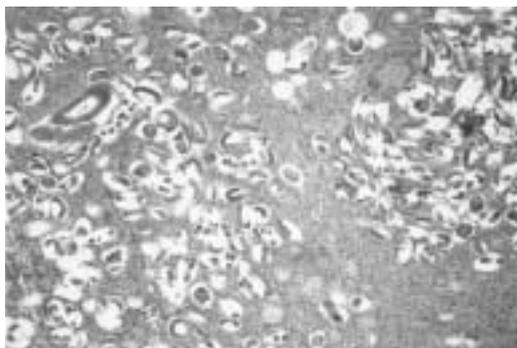
riscontrata una pneumopatia bilaterale di probabile origine parassitaria.

All'esame anatomo-patologico si rivenivano numerosi noduli grigiastri nel parenchima polmonare e decine di nematodi erano presenti nell'albero bronchiale.

Alcuni esemplari furono conservati in alcool 70% con l'aggiunta del 5% di glicerolo, per l'identificazione e varie porzioni di tessuto furono fissate in formalina al 10% per l'esame istologico.

## 3. Risultati

Istologicamente, caratteristiche erano le lesioni di polmonite interstiziale non purulenta a carattere subacuto e cronico. A livello dei noduli, si osservavano bronchiolite, alveolite ed ispessimento dei setti interalveolare, a loro volta infiltrati di cellule infiammatorie mononucleate. Inoltre erano presenti aspetti proliferativi bronchiolari ed iperplasia dei pneumociti di tipo II. Numerosi alveoli contenevano un gran numero di uova e larve di nematodi (Fig.1). All'interno dei noduli si osservava con frequenza anche iperplasia reattiva linfo-reticolare a carattere nodulare, a localizzazione sia perivasale, sia interalveolare (Fig. 2). Per l'identificazione di specie, si procedeva



**Fig. 1** – Lepre variabile. Polmone. Ematossilina-eosina, piccolo ingrandimento.

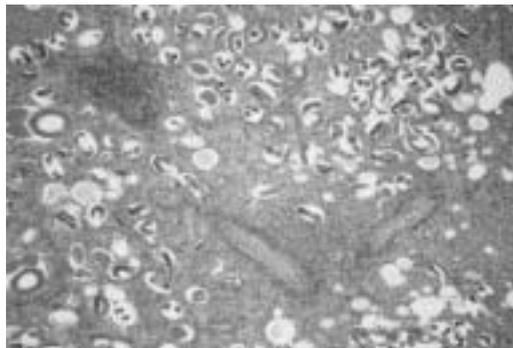
all'esame microscopico di esemplari di maschio adulto, previa chiarificazione in lattofenolo. Essi venivano classificati come *Protostrongylus pulmonalis* secondo Boev (1975), in base anche alla descrizione effettuata da Costantini et al. (1990), per gli esemplari rinvenuti in lepri comuni in Val Gardena (Alto Adige): corpo 33-40 mm, larghezza 0.09-0.12 mm in prossimità della borsa. Spicoli granulati di colore bruno, di 160-182  $\mu\text{m}$  di lunghezza e 9-12  $\mu\text{m}$  di larghezza (Fig. 2).

#### 4. Discussione e Conclusioni

Questa sembra essere la prima segnalazione di *Protostrongylus* nella lepre variabile, in Italia e nell'arco alpino. E' verosimile che il parassita sia stato sempre presente e non sia mai stato descritto, data l'oggettiva carenza di studi biologici ed ecopatologici nelle popolazioni alpine di lepre variabile. In alternativa, si potrebbe ipotizzare che esso possa essere stato trasmesso alla lepre variabile dalla lepre comune. A tale proposito, la prima segnalazione in Italia di *P. pulmonalis* nella lepre comune risale agli inizi degli anni '90, in Val Gardena (Costantini et al., 1990).

*P. pulmonalis* parassita notoriamente sia la lepre comune che la lepre variabile nell'areale settentrionale, sia in popolazioni simpatriche che isolate delle due specie (Soveri & Valtonen, 1983) ed una parziale sovrapposizione di areale delle due specie ospiti si verifica anche sull'arco alpino.

La prevalenza e l'intensità delle infestazioni da *P. pulmonalis* sembrano essere più alte negli individui adulti, probabilmente perché l'entità e l'estensione delle lesioni a carico del parenchima polmonare procedono lentamente (Soveri & Valtonen, 1983). Tuttavia non sono mai state dimostrate associazioni tra la dinamica di popolazione della lepre variabile e *P. pul-*

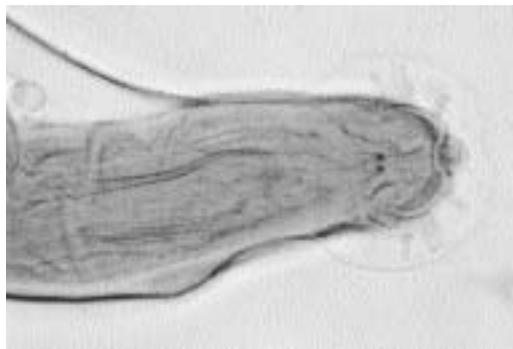


**Fig. 2** – Lepre variabile. Polmone. Ematossilina-eosina, piccolo ingrandimento.

*monalis* o altri elminti che parassitano la specie (Soveri & Valtonen, 1983; Iason & Boag, 1988). Sarebbe oltremodo utile la collaborazione con il mondo venatorio locale, per l'osservazione dei capi abbattuti e per la raccolta dei visceri, con il fine di ottenere ulteriori elementi alla valutazione dello stato sanitario delle popolazioni alpine di lepre variabile. Tali valutazioni potrebbero contribuire ad accertare se e quanto il declino di popolazione osservato nella lepre variabile alpina sia ascrivibile anche a forme morbose. Per quanto concerne la parasitosi da *P. pulmonalis*, sarebbe necessario raccogliere campioni biologici e dati sugli individui osservati con il fine di poter stimare la prevalenza, l'intensità e l'estensione delle lesioni nei casi osservati.

#### Bibliografia

- BJARVALL, A., AND S. ULLSTROM (1986) - The mammals of Britain and Europe. Croom Helm Ltd, Beckenham, Kent, U K, 240 pp.  
BOEV A. N. (1975) - Essential of Nematodology Vol. XXXV. Protostrongylidae. K.M. Rizhikov, Moscow, Russia., 266 pp..



**Fig. 3** – *Protostrongylus pulmonalis*. Maschio, telamon. Ob. 40x.

- COSTANTINI R., MANFREDI M. T., IORI A., PACETTI A. (1990) - *Protostrongylus pulmonalis* from hares (*Lepus europaeus*) in Italy. *Parassitologia*, 32 (3):353-357.
- SOVERI T. & VALTONEN M. (1983) - Endoparasites of hares (*Lepus timidus* L., and *L. europaeus* Pallas) in Finland. *Journal of Wildlife Diseases*, 19:337-341.
- SPAGNESI M. & TROCCHI V. (1992) - La Lepre. Edagricole, Bologna, 275 pp.
- TOSCHI, A. (1965) Fauna d'Italia. Vol.VII. Mammalia. Edizioni Calderini, Bologna, Italy, 647 pp.



# INDEX

PREFACE AND FOREWORD .....	I
CHEMINI C., RIZZOLI A. - Land use change and biodiversity conservation in the Alps.....	1
PAULI H., GOTTFRIED M., GRABHERR G. - Effects of climate change on the alpine and nival vegetation of the Alps.....	9
MCCARTHY J. J. - Results from the use of a system of “rest rotational grazing” for livestock to improve wildlife habitat in Montana .....	13
GATTO M., PARIS G., RANCI ORTIGOSA G., SCHERINI G. - Metodi quantitativi per la gestione della fauna selvatica in provincia di Sondrio.....	17
MARI F., GENTILE L., LOCATI M. - Utilizzo del trasponder come marcatura permanente per la fauna selvatica.	27
MACRÌ B., DI BELLA C., CARACAPPA S., MARINO F., MACRÌ F., DE FRANCO A. - Shock traumatico in Aquila reale .....	31
RUSSO G., DI BELLA C., LORIA G. R., INSACCO G., PALAZZO P., VIOLANI C., ZAVA B. - Notes on the influence of human activities on sea chelonians in sicilian waters.....	37
GALLAZZI D., GRILLI G., CONCINA E., RIPEPI P., GRANATA R., VIGORITA V - Valutazione dello stato sanitario di turdidi da richiamo in gabbie di dimensioni tradizionali o maggiori. Parte I: aspetti morfologici, parassitologici e mortalità .....	43
SARTORELLI P., ZAFFARONI E., BELLICINI E. - Valutazione dello stato sanitario di turdidi da richiamo in gabbie di dimensioni tradizionali o maggiori. Parte II: parametri ematologici ed ematochimici.....	59
PICCIRILLO A., TROISI S., BAIANO A., MENNA L.F., FIORETTI A. - Indagine preliminare sull’ambientamento di starnie allevate con metodi intensivi .....	69
GUBERTI V., ZAMBONI L., CORRAIN R. - Interventi di controllo numerico delle popolazioni recettive e dinamica delle infezioni .....	75
WOBESER G. - Disease management in Wildlife.....	85
ARTOIS M. - Wildlife infectious disease control in Europe.....	89
ROSÀ R., RIZZOLI A., PUGLIESE A., GENCHI C. - Mathematical models and wildlife diseases: tecniques of parameters estimation for nematodes infections .....	99
DE LEO G.A., GUBERTI V. - Effetti dell’abbattimento controllato sulla evoluzione della virulenza: il caso della Peste Suina Classica .....	107
GARBARINO C., FABBÌ M., LOLI PICCOLOMINI L. - Animali selvatici e zoonosi: aspetti di interesse pratico per gli operatori del settore in relazione al rischio biologico.....	119
DI BELLA C., VITALE F., RUSSO G., GRECO A., MILAZZO C. , ALOISE G., CAGNIN M. - Are rodents a potential reservoir for <i>Leishmania infantum</i> in Italy?.....	125
PEYROT R., MANNELLI A., DE MENEGHI D., MENEGUZ P. G. - Indagini sul ruolo dei roditori selvatici e del capriolo come ospiti per <i>Ixodes ricinus</i> (Ixodidae) in un’area dell’appennino ligure-piemontese .....	131
MANNELLI A. - Effetto della composizione delle popolazioni faunistiche sulla trasmissione di <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato da parte di <i>Ixodes ricinus</i> (Ixodidae): studio con un modello di simulazione .....	137
DINI V., FERROGLIO E., SERRAINO, MIGNONE W., SANGUINETTI V., BOLLO E., ROSSI L. - Epidemiologia delle micobatteriosi nel cinghiale in Liguria .....	145
MASSONE A., CAPUCCI L., MACCHI C., GIOVANNINI S., LAVAZZA A. - Controllo sanitario di conigli selvatici nel Parco del Serio (provincia di Bergamo) .....	155
CAMMI G., CAPUCCI L., BERNINI F., LAVAZZA A. - Indagine sulla diffusione dell’EBHS nella popolazione di lepri presente nel territorio della provincia di piacenza nel 1997.....	165
STANCAMPANO L., CASSINI R., DALVIT P. - Emissione di coccidi e uova di elminti gastrointestinali in una popolazione di Camoscio alpino in calo demografico .....	175
BIDDAU M., CHERCHI M., CABRAS P.A., MESINA G., DEIANA A.M., GARIPPA G. - Nematodi broncopolmonari in cinghiali della provincia di Nuoro.....	185
GARIPPA G., BIDDAU M., CHERCHI M. - Endo ed ectoparassiti di <i>Cervus elaphus corsicanus</i> della Sardegna ....	189
ZAFFARONI E., MANFREDI M. T., LANFRANCHI P. - Specie-specificità dei nematodi abomasali in ruminanti selvatici alpini .....	191
CAPELLI G., STANCAMPANO L., MAGI M., POGLAYEN G., GUBERTI V. - Diversità delle comunità parassitarie intestinali in tre popolazioni di volpi .....	199

CARCANGIU V., VACCA G. M., CUBEDDU G. M., BINI P. P. - Rilievi ematici in asini bianchi dell'Asinara sottoposti a trattamento per il controllo delle ectoparassitosi .....	207
CONTINI M. S., ATZENI A. - Parametri ematochimici di alcune specie di uccelli selvatici presenti in Sardegna.....	211
DEFRANCESCHI A., FASOLA M., GRILLI G., FERRETTI E., GALLAZZI D. - Stato sanitario di una popolazione di Gabbiano reale nidificante nelle Valli di Comacchio.....	215
DI BELLA C, PIRAINO C., CARACAPPA S, FORNASARI L., VIOLANI C., ZAVA B. - Enteric microflora in Italian chiroptera .....	221
FERROGLIO E., ACUTIS P.L., MASOERO L., GENNERO S., ROSSI L. - Indagine sierologica su una popolazione di cinghiali nelle Alpi occidentali.....	225
FERROGLIO E., GENNERO S., ROSSI L., TOLARI F. - Monitoraggio di un focolaio di brucellosi nel camoscio alpino .....	229
GALLI P, CROSA G., ALBRICCI O., TIEGHI K., COTTA RAMUSINO M., GARIBALDI L. - Influenza dell'eutrofizzazione sulle popolazioni di parassiti di Scardole.....	233
GENTILE L., SCIOLI E. - Gestione sanitaria dei punti di alimentazione artificiale per i carnivori selvatici nel Parco Nazionale d'Abruzzo .....	237
GENTILE L., MARI F., ROTH H. U. - Impiego della miscela di Hellabrunn nella immobilizzazione chimica di linci in cattività .....	241
MANFREDI M. T., PICCOLO G., FRAQUELLI C., PERCO F. - Elmintofauna del cervo nel Parco Nazionale dello Stelvio .....	245
MARTELLA D., POGLAYEN G., GENTILE L., MARI F., MARTINI M. - Indagine sui coccidi presenti nel Camoscio d'Abruzzo.....	251
NEBBIA P., FERROGLIO E., ROBINO P., ROSATI S., ROSSI L. & MENEGUZ G. - Studi sulla presenza della paratuberculosis in cervi del parco naturale Gran Bosco di Salbertrand .....	257
MANFREDI M. T., GIACOMETTI A., FRAQUELLI C., PICCOLO G. - Studio della popolazione elmintica in Volpi ( <i>Vulpes vulpes</i> ) del Trentino Alto-Adige .....	261
SIRAGUSA C., CASAPULLA R., BALDI L., GUARINO A., MIZZONI V., ROMANO R. - Osservazioni sullo stato sanitario di alcuni selvatici in Campania: indagine sierologica .....	265
STANCAMPIANO L., NARDELLI S., CARNIELETTO P., TURILLI C., MARAGNO M., CANTELE CARLO M.- Monitoraggio sierologico nel Capriolo nella zona dell'altopiano di Asiago (VI).....	269
TAVAN N., FERROGLIO E., CICERALE M, ROSSI L. - Indagine sull'elmintofauna gastro-intestinale del capriolo nell'Appennino Savonese .....	275
ZUCCA P., FRANCESE M., ZUPPA F, SPOTO M., OBEROSLER R. - Interventi medico veterinari su tartarughe marine comuni spiaggiate nel Nord Adriatico .....	279
GUBERTI V., BATTISTI A., DE MARCO M. A., MORABITO S., DELOGU M., DI GUARDO G., BUCCELLA C., LAVAZZA A., RAGANELLA PELLICIONI E. - Episodi di mortalità determinati da <i>E. coli</i> nel Capriolo nell'Appennino settentrionale .....	283
FENATI M., GUBERTI V., DE MARCO M. A., MARTINI M. - Epidemiologia delle virosi respiratorie nel capriolo in provincia di Bologna .....	287
RIZZOLI A., ROSSO F, FERRARI N., ROSÀ R., FARRÈ L., MANFREDI M. T., HUDSON P.J. - Infestazione da <i>Ascaridia compar</i> (Schrank, 1790) nella Coturnice alpina: effetti sull'ovodeposizione e su alcuni valori ematochimici .....	291
ZUCCA P., OBEROSLER R., BENUSSI E. - Recupero di fauna selvatica nella provincia di Trieste nel triennio 1994 -1996 ( <i>Mammalia - Aves</i> ).....	295
BATTISTI A., DI PAOLO M., CARLEVARO L., DI GUARDO G. - <i>Protostrongylus pulmonaris</i> in una lepore variabile: prima segnalazione in Italia .....	299

**J.Mt.Ecol.** is published by the **Gran Paradiso National Park**. Original manuscripts concerning the most diverse aspects of mountain ecology are welcome.

All manuscripts (in English) submitted are considered for publication on the understanding that they have not been published elsewhere.

**J.Mt.Ecol.** is published once a year. Subscription for 2004 is 21,00 Euro. For all orders write to the Director of publications.

## INSTRUCTIONS FOR CONTRIBUTORS TO THE JOURNAL

**COPYRIGHTS** - If a manuscript is accepted for publication, authors or their employers must transfer their full copyright interest exclusively to the Gran Paradiso National Park.

**COPY** - Use good quality white paper, size A4. Double spaced throughout, with 2.5-3 cm margins (WIN WORD- MAC WORD files on Floppy-disk or CD Rom are welcome). Keep 2 copies.

**MANUSCRIPTS** - **J.Mt.Ecol.** publishes two categories of original papers: a - Research papers, up to 10-15 pp.; b - Monographs, up to 35-40 pp.

**TITLE** - Use no more than 15 words. Use vernacular names of institutes and organisms. The name of the author(s) should be typed on the line below the title, the address should follow on the next line. Correspondence will be sent to the first-named author, unless otherwise requested.

**ABSTRACT** - Articles require an abstract which describes the problem studied, the most important findings and their utility. Place key-words below the abstract. Supply about 10 key-words (vernacular and scientific names of principal organisms, geographic area, etc.). In the abstract or text, the first mention of a vernacular name should be accompanied by its scientific name.

**REFERENCES, LITERATURE CITED** - Authors must use the style reported in the present issue. Use capital and lowercase letters for authors' last names, initials for given names. In the text, references should be cited in the following forms: Rossi (1993); Rossi (1993a, b); Bianchi & Rossi (1993); Bianchi *et al.* (1993); (Bianchi, 1993); (Bianchi & Rossi, 1993); (Bianchi *et al.*, 1993); (Bianchi & Rossi, 1993a, b).



**SIEF**  
Società Italiana di  
Ecopatologia della Fauna

## CONTENTS

---

PROCEEDINGS OF THE 2ND CONFERENCE OF THE SOCIETÀ ITALIANA DI ECOPATOLOGIA DELLA FAUNA (SIEF):

- LAND USE AND ECOLOGY OF FREE RANGING POPULATIONS
  - MONITORING AND WILDLIFE DISEASE CONTROL
-