

1. INTRODUZIONE

L'ambiente è un sistema biologico estremamente dinamico di cui fanno parte numerose specie animali legate tra loro da complessi e precari rapporti trofici: ogni singolo animale rappresenta il prodotto dell'habitat in cui vive, di cui è parte e con cui coopera intimamente.

(www.zadig.it)

La pressione della popolazione umana, la degradazione ambientale, la progressiva distruzione del normale ecosistema e la frammentazione degli habitat stanno portando alla graduale scomparsa delle biodiversità esistenti e all'estinzione di alcune specie selvatiche.

Il decremento di alcune popolazioni animali e vegetali risulta essere strettamente correlato alle modificazioni del territorio attuate dall'uomo e fortemente influenzato dalla nascita di nuovi sistemi economici e sociali; ciò è particolarmente evidente in un paese come l'Italia il cui paesaggio ha storicamente costituito il luogo di elezione di numerosi e importanti insediamenti urbani.

Lo *stato sanitario degli animali selvatici e domestici* è un importante indicatore della salute e della integrità di un ecosistema e dei suoi componenti. In quest'ottica, le patologie o i problemi tossicologici riguardanti il mondo animale non rimangono esclusivamente inerenti

ad esso, ma assumono rilevanza per l'intero ecosistema e quindi anche per l'uomo.

La medicina veterinaria potrebbe dare un importante contributo alle conoscenze e alla scelta di azioni gestionali adatte al mantenimento del benessere di un ecosistema attraverso l'attivazione di un *programma di sorveglianza sanitaria sulla fauna selvatica* che includa:

- monitoraggio sanitario degli animali selvatici come indicatori del benessere di un ecosistema;
- indagini sanitarie che chiariscano il ruolo dei selvatici nell'ecopidemiologia di malattie trasmissibili, batteriche e virali;
- attività di rilevamento di sostanze tossiche e xenobiotiche negli animali selvatici come indicatori di inquinamento ambientale.

Nel nostro paese, pur essendo in aumento le ricerche scientifiche effettuate sulle patologie della fauna selvatica, non esiste di fatto un efficace sistema di sorveglianza epidemiologica su queste specie: gli studi condotti in merito sono esclusivamente rappresentati da indagini puramente conoscitive, limitate sia dal punto di vista geografico che di specie. Di conseguenza, non si è ancora giunti ad un quadro generale sulla situazione sanitaria del patrimonio faunistico italiano, né tantomeno alla possibilità di rilevazione tempestiva dell'esistenza di

eventuali interazioni di carattere sanitario tra popolazioni selvatiche, domestiche e uomo.

Lo studio della fauna selvatica pone non poche problematiche legate soprattutto alla difficoltà di contatto con queste specie e, di conseguenza, alla scarsa accessibilità anche alle semplici operazioni di monitoraggio normalmente in uso per gli animali domestici. E', purtroppo, una realtà di fatto che un problema sanitario o casi di mortalità della fauna selvatica sono segnalati esclusivamente quando raggiungono una diffusione elevata o proporzioni catastrofiche nell'ambito della popolazione interessata o, ancora peggio, quando provocano gravi casi di ripercussione sulla salute pubblica, dovuti ad infezioni a carattere zoonosico.

In questo complesso panorama, l'avifauna selvatica sembra rappresentare senza dubbio la classe animale che meglio si presta ad essere utilizzata come indicatore del grado di complessità o di degradazione dell'ambiente in quanto:

- sono la classe di vertebrati meglio conosciuta, sia dal punto di vista sistematico che dal punto di vista ecologico;
- sono animali in grado di colonizzare tutti gli ambienti a differenza di altre classi di vertebrati che, invece, sono legate a particolari nicchie ecologiche;

- specialmente durante il ciclo riproduttivo, sono legati a particolari condizioni ambientali, alle cui modificazioni sono molto sensibili ed in grado di reagire velocemente, sia in virtù delle loro elevate doti di mobilità, sia in virtù dell'elevato turnover delle popolazioni;
- costituiscono una componente prioritaria delle comunità animali, sia per l'abbondanza di specie, sia per l'elevato numero di individui che compongono le stesse;
- rappresentano la classe di vertebrati che più facilmente può essere osservata, studiata e censita in natura.

Quindi, le indagini ecologiche di tipo applicativo, che utilizzano gli uccelli come indicatori ambientali, hanno trovato sempre maggiore diffusione come indispensabili strumenti diagnostici nei programmi di gestione, studio e monitoraggio dell'ambiente e delle sostanze potenzialmente tossiche in esso presenti.

Inoltre, dal punto di vista di studi ecoepidemiologici, gli uccelli selvatici che, per varietà di specie, abitudini comportamentali, soprattutto migratorie, ed intrinseca resistenza ad agenti patogeni, possono essere considerati indicatori ambientali di una vastissima area geografica nonché particolarmente importanti ai fini di una più approfondita comprensione dell'epidemiologia di numerose patologie di interesse zoonosico.

2. AMBITI DI STUDIO E SCOPO DELLA RICERCA

La linea di ricerca seguita durante il corso di questi tre anni ha incluso vari aspetti correlati alla fisiopatologia dell'avifauna selvatica, inseriti e riferiti all'ambito ecoepidemiologico delle principali malattie infettive, batteriche e virali, di interesse zoonosico.

Le principali linee seguite sono state:

- *Monitoraggio sanitario: indagine sulla presenza di agenti patogeni di interesse zoonosico nell'avifauna selvatica campana.*

In particolare, la nostra attenzione si è soffermata su agenti patogeni di origine batterica, responsabili delle principali tossinfezioni alimentari nell'uomo, quali *Salmonella* spp, *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* e *Yersinia enterocolitica*, e su *Escherichia coli* O157:H7 e altri enterobatteri, produttori di Verocitotossine, quali *Citrobacter freundii* e *Citrobacter braakii*, responsabili nell'uomo, sia di enteriti batteriche di origine alimentare sia di patologie più gravi come la Sindrome Uremica Emolitica.

Inoltre, trattandosi di specie aviari, un controllo epidemiologico non poteva non comprendere, soprattutto in quest'ultimo periodo,

anche la ricerca dei virus influenzali nelle specie selvatiche migratorie.

- *Controllo sanitario di rapaci accolti in Centri di Recupero della Fauna Selvatica.*

Attraverso controlli microbiologici degli animali in degenza nel Centro e necrosopie dei deceduti, si è cercato di ottenere un quadro più chiaro sulla patologia di queste specie e di fornire un supporto valido per la gestione di questi animali all'interno dei CRAS, anche alla luce del recente tentativo di stilare linee guida condivise sulla gestione igienico sanitaria di tali centri.

- *Studio di malattie tipiche di specie: Sindrome Ischemica del Gheppio (Falco tinnunculus)*
- *Casi di mortalità nell'avifauna selvatica: 78 Gru cenerine (Grus grus) morte in Conza della Campania (AV)*

Lo svolgimento di questo lavoro è stato possibile grazie alla collaborazione con Enti e Associazioni che si occupano di gestione e conservazione della fauna selvatica, quali WWF, Centri di Recupero della Fauna Selvatica e alla partecipazione a programmi di monitoraggio di uccelli migratori istituiti da gruppi di inanellamento gestiti dall'Istituto Nazionale della Fauna Selvatica (INFS).

3. MONITORAGGIO SANITARIO: INDAGINE SULLA PRESENZA DI AGENTI PATOGENI DI INTERESSE ZOONOSICO NELL'AVIFAUNA SELVATICA CAMPANA.

Le *zoonosi* sono malattie che si trasmettono dagli animali all'uomo e che hanno acquisito a livello mondiale un ruolo di primo piano in ambito di sanità pubblica. Recentemente sono anche state classificate, secondo la definizione proposta da Blancou, come *“Danno alla salute e/o qualità della vita umana derivante da rapporti con animali”*.

Nelle ultime due decadi, alcune zoonosi, definite *zoonosi emergenti*, hanno conosciuto un notevole incremento della loro incidenza grazie ad una maggiore diffusione geografica e all'adattamento a nuovi ospiti e vettori.

Il numero totale degli agenti zoonosici è stato stimato a 868, che costituisce il 61 % dei 1415 patogeni umani. Tra questi 132 sono considerati i patogeni emergenti (Slingenbergh J., et al, 2004). Nell'ambito delle zoonosi emergenti, quelle che più preoccupano la salute pubblica hanno come *reservoir* la fauna selvatica e, in particolare, gli uccelli selvatici.

Sono circa 40 i patogeni trasmissibili dai volatili selvatici agli animali domestici e all'uomo (Vlahovic K., et al, 2004).

Il possibile ruolo svolto dagli uccelli selvatici nella diffusione di agenti patogeni è un concetto ancora poco approfondito.

Le abitudini comportamentali di queste specie, in particolare le migrazioni e la gregarietà, sono fattori biologici che, dal punto di vista epidemiologico, potrebbero assumere particolare importanza. In particolare, gli uccelli selvatici migratori possono fungere da carriers di agenti patogeni permettendone la diffusione in ampie aree geografiche. Lo stress legato ai movimenti migratori determina una riduzione di quella che è l'intrinseca resistenza all'infezione, tipica delle specie selvatiche e un aumento dei livelli di batteriemia e viremia all'interno dell'organismo. Ne risulta un'esacerbazione dell'eliminazione del germe, attraverso feci ed altri escreti, da parte del soggetto infetto, la conseguente contaminazione delle acque e del terreno e la diffusione e sopravvivenza dei patogeni nell'ambito di un nuovo ambiente. Inoltre, diverse specie di uccelli selvatici spesso si ritrovano in gregarietà nelle aree di sosta lungo le rotte migratorie. Ciò potrebbe portare ad un'eventuale trasmissione orizzontale del germe nonché ad una trasmissione interspecifica dell'infezione.

Per quanto sopra esposto, si sta avvertendo sempre di più la necessità di mettere in atto programmi di monitoraggio e sorveglianza della

fauna selvatica, rispetto al ruolo svolto da queste specie nella diffusione e mantenimento in natura di agenti patogeni responsabili di zoonosi..

3.1. LE TOSSINFEZIONI ALIMENTARI

Tra le malattie trasmissibili, quelle che registrano una maggiore incidenza sono sicuramente le tossinfezioni alimentari. Si stima che, ogni anno, circa 1/3 della popolazione dei Paesi industrializzati sia colpita da questo tipo di infezione. Le percentuali sono notevolmente più alte se si considerano quei Paesi dove le condizioni igienico-sanitarie sono precarie (Schlundt J. et al, 2004).

Solo nel 2004, negli Usa e in Europa, le malattie trasmesse dagli alimenti sono state ritenute responsabili di circa 1800 decessi, nei Paesi meno sviluppati i decessi si stimano intorno a 1,9 milioni (Schlundt J. et al, 2004).

Le *tossinfezioni alimentari* sono delle sindromi acute, caratterizzate da una sintomatologia solitamente di tipo gastroenterico, conseguenti all'ingestione di cibo contaminato da microrganismi o dalle tossine da essi prodotte.

Gli agenti patogeni più comuni responsabili di tossinfezione alimentare sono *Salmonella spp*, *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* e

Yersinia enterocolitica, responsabili nell'uomo di una sintomatologia gastroenterica aspecifica, caratterizzata da vomito, diarrea, febbre, disidratazione e, occasionalmente, morte in soggetti immunodepressi (anziani, pazienti oncologici sottoposti a chemioterapia, affetti da sindromi immunodepressive e bambini).

Patogeni emergenti anche in sanità pubblica sono *Escherichia coli* O157:H7 e di altri enterobatteri, produttori di Verocitotossine, quali *Citrobacter freundii* e *Citrobacter braakii*, responsabili nell'uomo, sia di enteriti batteriche di origine alimentare sia di più gravi Sindromi Uremiche Emolitiche nei bambini al di sotto dei 5 anni e negli anziani. La contaminazione degli alimenti destinati all'uomo può avvenire attraverso diverse modalità :

- contaminazione delle carni da parte di microrganismi presenti negli intestini di animali sani in seguito a macellazione inappropriata;
- contaminazione di frutta e verdura in seguito a irrigazione o lavaggio con acqua contaminata da feci animali o umane veicolanti i microrganismi patogeni;
- contaminazione delle uova in seguito ad invasione dell'apparato riproduttore delle ovaiole (Salmonella)

- contaminazione dei cibi durante i processi produttivi in seguito a manipolazioni errate eseguite da personale privo di specializzazione igienico-sanitaria (www.epicentro.iss.it).

L'infezione dell'uomo avviene in seguito all'ingestione di alimenti ed acqua contaminata (Fig.1).

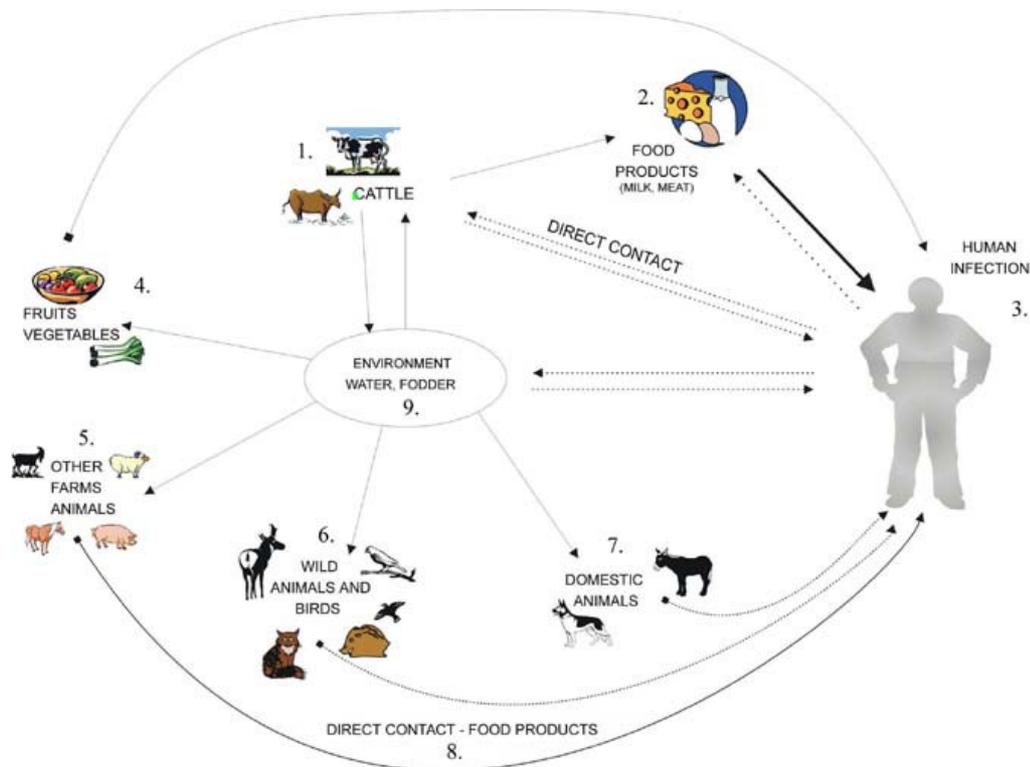


Fig 1. Fonti umane di tossinfezione

Gli alimenti maggiormente implicati negli episodi di tossinfezione alimentare sono :

- carne o preparazioni a base di carne crude o non adeguatamente cotte;
- uova e i suoi derivati;

- latte non trattato termicamente e i suoi derivati (panna, crema e formaggi freschi, ecc.);
- prodotti ittici consumati crudi;
- alimenti di natura vegetale irrigati con acqua infetta;
- cibi contaminati durante la loro conservazione in seguito al contatto con animali portatori.

Una maggiore incidenza degli episodi di tossinfezione alimentare è stata riscontrata in particolari gruppi della popolazione come anziani, bambini, donne in gravidanza, diabetici, soggetti sieropositivi all' HIV e individui sottoposti a chemioterapia. Queste categorie sono considerate a maggior rischio di infezione (www.hivpositive.com).

I sintomi suscitati in corso di tossinfezione alimentare conseguono al preponderante coinvolgimento dell'apparato gastrointestinale.

Infatti, le manifestazioni più frequenti sono la nausea, il vomito, i crampi addominali e la diarrea, che insorgono dopo un periodo di incubazione relativamente breve. Più raramente invece possiamo rilevare anche febbre e brividi. Di solito l'infezione si risolve spontaneamente in breve tempo senza complicazioni. In alcuni casi, come nelle suddette categorie a rischio l'infezione, può mostrare una evoluzione più grave e può, occasionalmente, avere un esito letale.

In particolare, le tossinfezioni alimentari legate agli enterobatteri produttori di Verocitotossine, come *Escherichia coli* O157:H7, il

Citrobacter freundii e *Citrobacter braakii*, possono esitare, in età pediatrica e senile, in una Sindrome Uremica Emolitica (SEU), caratterizzata da insufficienza renale acuta, anemia emolitica microangiopatica e piastrinopenia (Caprioli A., et al., 2005)).

Il *Citrobacter freundii*, infine, grazie a recenti studi condotti negli USA, è stato ritenuto responsabile anche di meningiti e ascessi cerebrali nei neonati (Badger J.L., et al., 1999).

I programmi di monitoraggio riguardanti le infezioni sostenute da questi germi, hanno mostrato un preoccupante incremento del numero dei casi nell'ultimo decennio.

Tutto ciò è da attribuire ad una serie di fattori :

- maggiore estensione della fascia dei soggetti a rischio (anziani, bambini e immunodepressi);
- la modificazione degli stili di vita che portano ad un più frequente ricorso alla ristorazione collettiva;
- diffusione dei sistemi di allevamento intensivo;
- aumento degli scambi commerciali con possibilità di importazioni di alimenti contaminati da germi non usuali;
- bassa specializzazione del personale deputato al confezionamento degli alimenti.

- Cenni sull' incidenza delle tossinfezioni alimentari nell'uomo

Nonostante risulti inevitabile sottostimare l'incidenza delle infezioni sostenute da questi germi in medicina umana a causa della aspecificità dei sintomi suscitati, il numero dei casi registrato è preoccupante.

Il maggior numero di vittime viene registrato nei Paesi più poveri dove ogni anno sono ritenuti responsabili di circa 1,9 milioni di morti, di cui la maggior parte bambini. Nei Paesi industrializzati circa un terzo della popolazione è colpito dalle tossinfezioni alimentari ogni anno (Schlundt J. et al, 2004).

La Comunità Europea ha istituito un'agenzia per il monitoraggio e la raccolta dei dati denominata *European Food Safety Authority* (EFSA) il cui scopo è quello di attuare una sorveglianza riguardante l'incidenza delle zoonosi nei Paesi Membri e fornire una banca dati Europea a tale riguardo (Tabella n.1).

In Europa, annualmente, le tossinfezioni alimentari causano dai 3,3 a 12,3 milioni di casi con 3900 decessi (www.antropozoonosi.it).

Tabella n.1: Dati EFSA 2004: incidenza tossinfezioni alimentari in UE

Agenti di tossinfezione alimentare	N° di casi	N° di focolai	N° di persone affette	N° di ospedalizzazioni	N° di decessi
<i>Salmonella spp</i>	192.703	5.067	30.638	3.304	12
<i>Campylobacter spp</i>	183.961	1.243	3.749	157	n.d.
<i>E. coli 0157:H7 spp</i>	2.070	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Yersinia spp</i>	10.381	51	182	5	n.d.
<i>Citrobacter spp</i>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

L'incidenza totale delle malattie trasmesse dagli alimenti è indubbiamente difficile da stimare, ma alcuni dati significativi danno un'idea della complessità della problematica: Mead PS et al stimano che negli USA si verificano annualmente 76 milioni di casi, con 325.000 ricoveri e 5000 decessi. In Italia nel 2000 sono stati notificati 14460 casi di tossinfezione alimentare (World Health Organization, 2001), mentre non esistono stime confrontabili con quelle fornite in altri Paesi come Inghilterra e Galles (Adak G.K., et al., 2005) dove si stimano ogni anno 2 milioni di casi, con 22.000 ospedalizzazioni e 687 decessi, l'Australia (Hall G.K., et al., 2005) 5.4 milioni casi/anno che comportano 15.000 ospedalizzazioni e 80 decessi ed il Canada con circa 2,2 milioni di casi annui (Food Safety Management System, 2002).

- *Salmonellosi*

Il genere *Salmonella* appartiene alla famiglia delle Enterobacteriaceae.

Sono germi Gram-negativi, anaerobi facoltativi, con una temperatura di crescita ottimale di 37 °C .

Nel genere *Salmonella* distinguiamo due specie *S.enterica* e *S.bongori* e circa 2400 sierotipi (Ricci A., 2005). I sierotipi si differenziano, soprattutto, per la specificità dell'ospite. Da un lato abbiamo la *S. typhi* e *paratyphi* specifiche dell'uomo, in grado di provocare una forma morbosa molto grave, la c.d febbre tifoidea. Dall'altro abbiamo sierotipi che non mostrano alcuna specificità d'ospite, in grado di provocare patologie a carattere zoonosico. I maggiori rappresentati di questa categoria sono la *S. enteritidis* e la *S. typhimurium*. Essi sono tra i più importanti agenti di tossinfezione alimentare nell'uomo.

Questi sierotipi sono stati isolati nel tratto digerente di numerose specie animali, domestiche e selvatiche, generalmente asintomatiche, che fungono da reservoir dell'infezione. Dal tratto intestinale raggiungono l'esterno attraverso l'escrezione fecale.

Tra i reservoir domestici possiamo distinguere soprattutto bovini, suini, equini, polli e tacchini. Questi sono i maggiori responsabili della trasmissione dell'infezione all'uomo, che si verifica soprattutto attraverso la contaminazione dei prodotti di origine animale come uova e derivati, carne e latte. L'acqua contaminata da feci infette,

quando usata per l'irrigazione e il lavaggio di frutta e verdura, può trasformarle in un ulteriore veicolo di infezione per l'uomo (Ricci A., 2005).

L'infezione nell'uomo rimane generalmente localizzata al tratto gastroenterico. In seguito ad un periodo di incubazione variabile da 8 a 72 ore, possono insorgere nausea, vomito, diarrea, dolori addominali e talvolta febbre. Solitamente la sintomatologia scompare spontaneamente nell'arco di una settimana, ma occasionalmente, in soggetti immunodepressi, in bambini ed anziani si possono verificare delle complicazioni (Rondanelli M., et al., 2005).

Secondo i dati raccolti dal *European Food Safety Authority* (EFSA), nei Paesi aderenti, nel 2004 si sono verificati 192.703 casi di salmonellosi umana. In particolare, i 5.067 focolai d'infezione, identificati nell'intero territorio degli Stati Membri, hanno coinvolto 30.638 persone con 3304 ospedalizzazioni e 12 morti.

La stessa fonte riporta la *S. enteritidis* come responsabile del 76% dei casi di infezione e di tutti i casi di decesso registrati. Alla *S. typhimurium* è attribuito, invece, il 14% delle infezioni (EFSA, 2005).

Negli ultimi anni, per controllare la capacità di diffusione dei batteri enteropatogeni responsabili di tossinfezioni alimentari, oltre all'*European Food Safety Authority* (EFSA), sistema comunitario europeo atto al monitoraggio delle zoonosi, è stato istituito un nuovo sistema

di sorveglianza e raccolta dati denominato *Enter-net*, specifico per le tossinfezioni provocate da Salmonella ed altri coliformi.

In Italia, il sistema *Enter-net* riferisce che nel 2004 sono stati registrati 5156 casi umani attribuibili al genere Salmonella. Circa il 42% delle infezioni colpisce soggetti con un'età compresa tra 1 e 5 anni.

-Yersiniosi

Il termine *yersiniosi* indica un'infezione umana causata dalla *Yersinia enterocolitica* o da *Y. pseudotuberculosis*.

Si tratta di germi Gram-negativi che appartengono alla famiglia delle Enterobacteriaceae.

Questi germi sono stati isolati in diverse fonti: ambiente, cibo, animali domestici e selvatici. Negli ospiti animali si localizzano soprattutto a livello intestinale e mammario e vengono eliminati con le feci e con il latte. Tra i domestici gli ospiti più pericolosi sono i suini, dove è riscontrata anche a livello tonsillare, ma anche bovini, caprini, cani e gatti possono veicolare il germe .

La trasmissione dell'infezione all'uomo avviene attraverso l'ingestione di acqua e cibo contaminato, e si manifesta con febbre, diarrea, dolori addominali. Le sindrome sostenuta dalla *Y. enterocolitica* si presenta con maggiore frequenza nei bambini con meno di 5 anni; la *Y. pseudotuberculosis*, al contrario, colpisce soprattutto soggetti tra i 5 e i 15 anni (Butler T., 1998).

Nel 2004, secondo i dati EFSA, sono stati registrati 10.368 casi di yersiniosi umana con una frequenza maggiore nei Paesi del Nord Europa. Il sistema riferisce inoltre di 51 focolai di tossinfezione alimentare, con 182 persone coinvolte e 5 ospedalizzazioni. Il 98,5% dei casi è riferibile alla *Y.enterocolitica* e solo l'1,3% alla *Y.pseudotuberculosis*. Si è constatato, inoltre, che i casi di yersiniosi riportati per il 25% riguardano bambini tra 1 e 4 anni e per un altro 25% individui con età compresa tra 5 e 14 anni.

In Italia, nessun caso di yersiniosi è stato riportato nel 2004 e gli ultimi isolamenti risalgono al 2002, con due singoli casi di infezione (EFSA, 2005).

- *Campylobacteriosi*

La campylobacteriosi è una delle tossinfezioni alimentari più comuni nei Paesi industrializzati. Questa è causata per la maggior parte dal *C.jejuni* e dal *C. coli*, e solo in minima parte dal *C. lari*, *C.fetus* e *C. upsialensis*. Si tratta di germi termofili appartenenti alla famiglia dei Campylobacteriaceae e presentano una temperatura di crescita ottimale di 42 °C.

La fonte principale di questi germi è l'acqua contaminata dalle feci di mammiferi ed uccelli, domestici e selvatici, in cui il germe si è localizzato a livello intestinale.

Negli uccelli, l'elevata incidenza dell'infezione è riferibile alla alta temperatura intestinale, favorevole alla crescita del germe (Luzzi I., Pezzotti G., 2005).

Il *Campylobacter* è comunemente isolato da polli, bovini, suini, ovini, cani e gatti. Spesso l'infezione in queste specie è asintomatica ma, occasionalmente, può causare aborto nelle pecore, dissenteria nei bovini, epatite nei polli e enterite nel cane (Luechtefeld A.W., et al., 1980).

L'uomo si infetta attraverso l'ingestione di alimenti di origine animale, crudi o poco cotti, l'acqua e il latte contaminato.

L'infezione umana si manifesta con una sintomatologia gastroenterica non differenziabile dagli altri agenti di tossinfezione alimentare. Solo occasionalmente nei più giovani e nei soggetti immunodepressi può determinare una colite ulcerosa e una sindrome nervosa. Solitamente la campylobacteriosi colpisce i bambini di età inferiore ai due anni, e presenta un picco di infezione nella stagione estiva.

Secondo i dati EFSA, nel 2004 si sono verificati 183961 casi umani di campylobacteriosi. I focolai di tossinfezione alimentare riferibili a *Campylobacter spp.* sono stati 1.243, con 3749 persone coinvolte e 157 ospedalizzazioni. Nell'82% dei casi è stato identificato come responsabile il *C. jejuni* (EFSA, 2005).

In Italia, il sistema Enter-net riferisce di 582 casi di campylobacteriosi umana, di cui il 90% sostenuto dal *C.jejuni* e solo il 6% dal *C. coli*. Il 40,7% delle infezioni riguarda una fascia d'età compresa tra 1 e 5 anni e il 26% tra i 15 e i 64 anni (Enternet, 2004).

Importante sottolineare che, a differenza delle tossinfezioni provocate da *Salmonella*, la sorveglianza epidemiologica riguardo le infezioni da *Campylobacter* spp è condotta su base volontaria, per cui il numero dei casi riportato non rappresenta la situazione reale.

- *Escherichia coli O157:H7*

L'*Escherichia coli O157:H7* è implicato in un gran numero di episodi di tossinfezione alimentare in medicina umana.

Si tratta di un germe Gram–negativo ed appartiene alla famiglia delle Enterobacteriaceae.

L'O157:H7 è considerato uno dei più importanti rappresentanti dei ceppi enteroemorragici dell'E. Coli. La sua patogenicità è legata al rilascio di verocitotossine ,simili a quelle prodotte dalla *Shigella dysenteriae*.

Questo agente infettante è stato isolato nelle feci di diversi animali selvatici e domestici. Il bovino è senza dubbio considerato il principale reservoir dell'infezione. I prodotti da esso derivati sono inoltre i maggiori responsabili dell'infezione umana (Badger J.L., et al., 1999).

Tra gli animali domestici sono state riscontrate positività anche in pecore, suini, cavalli, polli, oche, tacchini, cani e gatti.

La trasmissione dell'infezione all'uomo avviene in seguito all'ingestione di hamburgers poco cotti, latte, formaggio, frutta e vegetali, venuti a contatto con feci infette (Schlundt J., et al., 2004).

La sintomatologia nell'uomo è variabile e va da una semplice gastroenterite ad una colite emorragica. Nei bambini sotto i 10 anni e negli anziani, nel 10% dei casi, l'infezione evolve in una Sindrome Uremica Emolitica. Questa sindrome è caratterizzata da insufficienza renale acuta, anemia emolitica microangiopatica e trombocitopenia (Caprioli A., et al., 2005).

Nel 2004 in Europa il sistema EFSA riporta circa 2070 casi di infezione causati dall'E. coli 0157:H7, di cui 769 responsabili di sindrome uremica. In Italia, in particolare, i casi d'infezione sono stimati circa 100.

Nel nostro Paese, la sorveglianza delle infezioni imputabili a E. coli 0157:H7, come per il *Campylobacter*, è condotta anche dal programma Enternet, ma con notifica non obbligatoria su base volontaria. Essa riferisce di una incidenza più bassa rispetto agli altri Paesi europei. Dal 1/5/1998 al 31/7/2004 si sono verificati 429 casi d'infezione responsabili di Sindrome Uremica Emolitica in età pediatrica, con una media di 30 casi all'anno. La percentuale maggiore

(43%) delle infezioni si riscontra in bambini di età compresa tra 1 e 5 anni . Nel 32% di questi casi è stato isolato il sierogruppo 0157. Inoltre, in base al numero dei segnalamenti effettuati nelle singole regioni, si è notato un trend decrescente dal Nord al Sud Italia.

- *Citrobacter spp.*

Citrobacter spp. è considerato uno dei patogeni emergenti responsabili di tossinfezione alimentare .

E' un batterio Gram-negativo, appartenente alla famiglia delle Enterobacteriaceae, genere *Citrobacter*, ospite abituale dell'intestino dell'uomo e degli animali, eliminato attraverso l'escrezione fecale nell'ambiente esterno.

Nei soggetti immunodepressi, *Citrobacter spp.* è in grado di causare un'infezione dell'apparato urinario, respiratorio e gastroenterico.

I ceppi patogeni maggiormente responsabili delle turbe gastroenteriche sono il *C. freundii* e il *C. braakii*.

La loro enteropatogenicità è legata alla produzione di verocitotossine termostabili , simili a quelle prodotte dall'E. Coli.

Gli animali coinvolti nell'epidemiologia di questi patogeni sono i bovini, cavalli, cani, gatti e uccelli. In questi animali, solitamente asintomatici, a volte l'infezione può esitare in mastiti, agalassia e diarrea.

Nell'uomo i ceppi sopra indicati, oltre alla tossinfezione alimentare, possono causare una Sindrome Uremica Emolitica, polmoniti e setticemia (<F:\citrobacter\citrobacter.htm>).

Negli ultimi anni l'attenzione rivolta a questo germe si è accresciuta in virtù della scoperta della sua capacità di attraversare la barriera ematocefalica e di causare meningiti neonatali e ascessi cerebrali (Badger J.L., et al., 1999).

La sorveglianza epidemiologica è ancora in una fase iniziale.

Al momento gli unici dati disponibili provengono da un programma di monitoraggio attuato nel Regno Unito promosso dall' *Health Protection Agency* che riporta, nel 2005, 584 casi d'infezione riferibili a ceppi appartenenti al genere *Citrobacter*, di cui 278 sono quelli attribuiti al *C. freundii* (www.hpa.org.uk).

- Ruolo dei migratori nell'epidemiologia di agenti patogeni responsabili di tossinfezioni alimentari.

Nell'epidemiologia degli agenti patogeni responsabili di tossinfezione alimentare nell'uomo, il ruolo svolto dagli animali domestici è indiscutibile: essi costituiscono una fonte d'infezione importante per l'uomo attraverso l'assunzione di prodotti alimentari di origine animale, come latte e derivati o consumo di uova crude e carne poco cotta.

Ancora poco conosciuto, ma di notevole interesse scientifico, è, invece, il ruolo della fauna selvatica nella diffusione e mantenimento in natura di agenti patogeni responsabili di zoonosi.

In particolare, gli uccelli selvatici, per la diversità di specie e di abitudini comportamentali (migrazioni e/o gregarietà) e per la spiccata recettività all'infezione, che decorre, il più delle volte, in maniera asintomatica, potrebbero assumere un ruolo centrale nell'eco-epidemiologia di malattie trasmissibili, quali naturali reservoir e carrier d'infezione. Queste specie potrebbero rappresentare una potenziale fonte di infezione primaria per i volatili domestici ed un rischio per la salute pubblica.

Nell'epidemiologia degli germi responsabili di tossinfezione alimentare, un ruolo di primo piano è occupato dai passeriformi e dagli psittacidi. Poiché questi volatili sono soliti frequentare le zone prossime agli allevamenti, sono tra gli uccelli che maggiormente possono venire a contatto con i domestici, trasmettendo a questi gli agenti patogeni di cui sono portatori .

In letteratura si riscontrano numerosi lavori, svolti prevalentemente in Nord Europa, Stati Uniti, Giappone e Nuova Zelanda, riguardanti la recettività dei selvatici nei confronti di *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter fetus subsp. jejuni* ed *Escherichia coli*, specie batteriche che, oltre a rendersi responsabili di morbilità e mortalità

nell'ambito di un allevamento di pollame domestico, possono essere responsabili di gravi tossinfezioni alimentari nell'uomo. Inoltre, un dato estremamente interessante dal punto di vista epidemiologico è l'intrinseca resistenza delle specie ornitiche selvatiche nei confronti di questi patogeni, la cui presenza è raramente da collegare a casi di mortalità nelle stesse. Questo aspetto fa del selvatico un "carrier" che diventa un serbatoio naturale di infezione, favorendo, così, attraverso l'escrezione fecale e la conseguente contaminazione di acque e terreno, la diffusione del germe, la sua permanenza nell'ambiente e l'eventuale trasmissione ad animali di allevamento.

Ad esempio, gli isolamenti di *Salmonella* spp. negli uccelli selvatici sono numerosi ma quasi sempre correlati ad un decorso clinicamente asintomatico della malattia. Questo si traduce in una potenziale diffusione del germe nell'ambiente e, nel caso degli uccelli migratori, in diverse aree geografiche. Inoltre, dato estremamente preoccupante è il frequentissimo isolamento da queste specie di *Salmonella typhimurium*. La possibilità di trasmissione interspecifica tra selvatico e domestico, in questo caso, assume un'importanza ancora maggiore, sia in campo zootecnico, dove la Salmonellosi si può tradurre in ingenti perdite economiche per l'impatto sugli animali allevati e sulla produzione, sia nell'ambito di un discorso sulla tutela della salute pubblica, essendo la *S. typhimurium* agente responsabile di grave

tossinfezione alimentare nell'uomo (Vlahovic K. et al., 2004; Kapperud G. et al., 1983; Hubalek Z. , 2004).

Gli uccelli selvatici sono, inoltre, considerati serbatoi naturali di *Campylobacter* spp. e frequentemente menzionati come possibili vettori responsabili della diffusione e trasmissione del germe sia all'interno di allevamenti intensivi sia all'uomo che può contrarre l'infezione da alimenti contaminati, quali latte non pastorizzato e, soprattutto, carne di pollo non sufficientemente cotta (Broman T., et al., 2002).

Campylobacter jejuni risulta essere il ceppo maggiormente patogeno per l'uomo ed anche più frequentemente isolato negli uccelli selvatici (Craven S.E. et al., 2000). In particolare, gli isolamenti riguardano soprattutto anatidi selvatici (Luechtefeld A.W. et al., 1980) che, per la propria temperatura corporea (42°C circa) ed habitat, rappresentano un ottimo serbatoio naturale di questo germe la cui temperatura ottimale di crescita è appunto 42°C e che presenta una notevole resistenza in ambiente acquatico (Chuma T. et al., 2000; Waldenstrom J. Et al., 2002).

Gli *Escherichia coli* sono normali costituenti della flora intestinale di un soggetto che, però, in determinate condizioni di immunodepressione, molto frequenti a verificarsi in un allevamento intensivo, possono determinare tassi di mortalità economicamente preoccupanti. La patogenicità degli E.coli è basata su determinate caratteristiche del

batterio, per cui si distinguono in ceppi enteroinvasivi (EIEC), enteroemorragici (EHEC), enteropatogeni (EPEC) ed enteroadesivi (AEEC). Alcuni di questi risultano essere produttori di verocitotossine che sono alla base di gravi patologie umane, come la colite emorragica e la sindrome uremica emorragica. Il sierotipo maggiormente implicato nell'eziologia di tossinfezioni alimentari e sindromi uremiche nell'uomo è il sierotipo *O157:H7*. I prodotti alimentari di origine bovina risultano la principale fonte di infezione per l'uomo, ma anche altri animali come suini, polli, cani e gatti, possono essere portatori di tale germe ((Caprioli A.et al., 2005). Molto poco si sa sugli uccelli selvatici: recentemente si sono avuti isolamenti da piccioni e gabbiani, uccelli sinantropi, che potrebbero assumere un ruolo importante nella diffusione dell'infezione (Abiodun A., 1999; Gannon V.P.J., et al., 1993).

Altro agente patogeno, produttore di verocitotossine e riconosciuto responsabile di tossinfezioni alimentari nell'uomo è il *Citrobacter freundii*. Al contrario dell'E.coli *O157:H7*, il *Citrobacter freundii* è un enterobatterio che viene frequentemente isolato dal contenuto intestinale o più semplicemente dalle feci di uccelli, selvatici e domestici, spesso clinicamente sani, che di conseguenza potrebbero fungere da fonte diretta di infezione umana (Badger J.L., et al., 1999).

Il dato bibliografico concernente la *Yersinia enterocolitica* e le specie selvatiche è molto vario: sono stati ottenuti isolamenti da diverse specie di volatili selvatici con differenti habitat e abitudini alimentari in percentuali variabili dallo 0 al 37% (Kapperud G. and Olsvik O., 1982; Kapperud G. and Rosef O., 1983)). Molte delle segnalazioni sono da riferire all'isolamento di ceppi presumibilmente non patogeni o sui quali non si è indagato riguardo la tipizzazione, in due casi sono stati isolati ceppi appartenenti al sierotipo 0:5,27 da due esemplari di *Bubo virginianus* e da tre soggetti di *Anas poecilorhynca*, mentre ceppi produttori di enterotossina sono stati isolati da corvidi e gabbiani (Kaneuchi C., et al., 1989; Shayegani M. et al., 1986)).

3.2. INFLUENZA AVIARE: LA “NUOVA” EMERGENZA

L'Influenza aviare ad alta patogenicità è un'infezione del pollame domestico di enorme impatto economico sull'avicoltura mondiale, tanto da essere inserita nell'elenco delle malattie della "Lista A" dell'*Office International des Epizooties* (OIE).

I virus influenzali sono in grado di infettare un'enorme varietà di uccelli, sia domestici sia selvatici. Nel pollame domestico sono in grado di provocare gravi infezioni sistemiche, con percentuali di morbilità e mortalità che possono raggiungere anche il 100%

(Alexander D.J., 1995). Al contrario, negli uccelli selvatici, soprattutto acquatici migratori, l'infezione decorre il più delle volte in maniera asintomatica, e questo aspetto, associato ad una spiccata recettività all'infezione, un elevato tasso di eliminazione fecale e le particolari abitudini comportamentali (ad es. migrazioni e gregarietà) di queste specie, fa assumere loro un ruolo centrale nell'eco-epidemiologia di tali infezioni, quali principali reservoir di virus, e quindi potenziale fonte di infezione primaria per i volatili domestici (Alexander D.J., 2000).

Ad oggi i virus influenzali sono stati isolati nella maggior parte delle famiglie di uccelli. In particolare, l'infezione è stata riscontrata in oltre 90 specie, appartenenti a 13 differenti ordini (Anseriformi, Charadriiformi, Gaviiformi, etc.). Il maggior numero, varietà e distribuzione di virus si sono avuti nell'ordine *Anseriformes* (anatre ed oche), seguito dagli ordini *Charadriiformes* (gabbiani, sterne, etc.) e *Passeriformes* (storni, fringuelli, etc.) (Alexander D.J., 2000; Bengis R.G. et al., 2004). La maggior parte dei virus influenzali isolati dagli uccelli selvatici, però, sono apatogeni, ad eccezione dei ceppi H5N3 ed H7N1 ad alta patogenicità isolati, rispettivamente, da sterne comuni (*Sterna hirundo*) in Sudafrica nel 1961 (Becker W. B., 1966) e da uccelli selvatici (*Passer domesticus* e *Streptopelia decaocto*) rinvenuti morti in prossimità di focolai HPAI nei polli in Italia nel 2000 (Capua I. et al., 2000). Anche se la maggior parte dei virus influenzali isolati dagli

uccelli selvatici sono apatogeni o comunque dotati di scarso potere patogeno, questi però, come dimostrato recentemente, attraverso mutazioni o ricombinazioni genetiche, hanno la capacità di mutare in ceppi ad elevata patogenicità oppure adattarsi ad altre specie, compreso l'uomo (De Marco M.A. et al., 2003). Fino a non molto tempo fa i virus influenzali raramente avevano manifestato la possibilità di trasmissione interspecifica dall'ospite aviare all'uomo. Dalla fine degli anni 90 la situazione è drammaticamente cambiata, infatti nel 1997, ad Hong Kong un subtipo H5N1 di virus influenzale aviare (responsabile di una grave epidemia di influenza fra il pollame) ha provocato malattia in 18 persone (6 ad esito mortale), che avevano avuto contatti diretti con volatili infettati dallo stesso subtipo virale. Da allora sono stati isolati numerosi altri virus influenzali aviari che hanno superato le barriere di specie passando dagli uccelli all'uomo: subtipo H7N7 in Olanda (2003), H9N2 ad Hong Kong ed H7N2 negli USA (2003), H5N1 nel Sud-est Asiatico (2003-2004), H7N3 in Canada ed H10N7 in Egitto (2004). Fra questi virus, quello che maggiormente preoccupa il mondo scientifico è il subtipo H5N1 in Asia, che dal 1997 ad oggi ha manifestato il suo potenziale patogeno non solo nelle specie aviari, ma anche nei mammiferi, uomo compreso, rappresentando così un serio rischio per la salute pubblica. Dal Luglio 2005 ad oggi sono sempre più frequenti le segnalazioni di

ritrovamenti di uccelli migratori morti, infetti da *Influenzavirus Tipo A ceppo H5N1* e di casi umani, purtroppo, a volte letali legati allo stesso virus.

Di recente si è verificato quello che gli esperti si aspettavano, ovvero il ritrovamento di uccelli migratori morti per infezione da H5N1 in Europa, Italia compresa. In totale sono stati testati in Europa circa 100.000 volatili selvatici e nel periodo Febbraio – Maggio 2006 sono stati diagnosticati 741 casi di HPAI nell'avifauna in diversi paesi dell'Unione Europea (Grecia, Italia, Slovenia, Ungheria, Austria, Rep. Ceca, Slovacchia, Germania, Svezia, Danimarca, Francia, Polonia e Regno Unito). I volatili colpiti dall'infezione sono risultati Cigni per il 62,8%, anatre per il 16,03%, oche per il 4,5% , rapaci nel 3,9% dei casi, infine altre specie sono coinvolte nel restante 13% circa dei positivi, tuttavia a fronte di queste segnalazioni si sono registrati nei paesi UE solo 4 focolai in pollame domestico riferibili ad H5N1 ad elevata patogenicità e nessun caso umano.

Con la decisione comunitaria 2005/464/CE del 21 giugno 2005, la Comunità Europea ha richiesto la predisposizione di programmi relativi all'effettuazione di indagini sull'influenza aviaria nel pollame e nei volatili selvatici. Gli obiettivi definiti dalla norma comunitaria sono rappresentati dalla stima della prevalenza dell'infezione da virus influenzali sottotipi H5 e H7 nelle differenti specie di pollame di

allevamenti intensivi e dalla sorveglianza su base volontaria dei volatili selvatici. A tal fine il Ministero della Salute, in ottemperanza a quanto previsto all'art. 1 della succitata decisione, ha predisposto, su indicazione del Centro nazionale di Referenza per l'Influenza Aviaria in collaborazione con l'Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica, un programma di monitoraggio che comprende controlli sui volatili selvatici di alcune aree umide del territorio nazionale.

MONITORAGGIO SANITARIO:

*Indagine sulla presenza di
agenti patogeni di interesse zoonosico
nell'avifauna selvatica campana*

PARTE SPERIMENTALE

L'obiettivo primario del programma di ricerca è stato quello di valutare la presenza di *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp, *Yersinia enterocolitica*, agenti responsabili di tossinfezione alimentare nell'uomo, nonché di *Escherichia coli* O157:H7 e di altri enterobatteri, produttori di Verocitotossine, quali *Citrobacter freundii* e *Citrobacter braakii*, responsabili di enteriti batteriche e sindromi correlate nell'uomo, in uccelli selvatici, migratori e stanziali, presenti sul territorio campano. Inoltre, si è effettuato un controllo sulla presenza di Orthomyxovirus, influenzavirus di Tipo A, nelle specie selvatiche migratorie.

Lo scopo della presente indagine è, pertanto, quello di approfondire le conoscenze sul ruolo di queste specie nell'eco-epidemiologia delle principali malattie trasmissibili, responsabili di morbilità e mortalità all'interno di allevamenti intensivi e di conseguente interesse zoonosico.

A tal fine è stato effettuato un monitoraggio sanitario delle popolazioni ornitiche presenti nella zona, avvalendosi, per la raccolta dei campioni, della partecipazione a programmi di monitoraggio ed inanellamento di uccelli migratori attuati dall' A.S.O.I.M. (*Associazione Studi Ornitologici Italia Meridionale*), presso le Stazioni di Studio delle Migrazioni attivate dal "*Parco Nazionale del Cilento e Vallo di Diano*" e dal "*Parco Regionale del Matese* e dal Gruppo Inanellamento Limicoli, in zona Foce Regi Lagni (Castelvoturno).

3.3. MATERIALI E METODI

- Campionamento

Catture: Le operazioni di cattura hanno seguito le direttive I.N.F.S. Sono state infatti utilizzate reti “*Mist Nets*”, reti nascoste, (12 e 18 mt di lunghezza X 3 mt di altezza).

Queste reti sono costituite da un robusto telaio, che sostiene una rete di nylon, posizionata verticalmente tra due pali, il colore scuro la rende invisibile agli esemplari che, non vedendola, vi urtano cadendo in una sorta di tasca che si forma in corrispondenza dei fili orizzontali della rete e che viene aperta dal movimento dell'esemplare stesso

Rilevazione delle misure biometriche Dopo la cattura, gli uccelli sono stati posti in sacchetti di tela per evitare che potessero ferirsi e quindi inanellati con anelli dell'Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica (Bologna-Italia) applicati al tarso. Su tutti gli individui catturati sono state rilevate di routine alcune misure biometriche ed è stato determinata l'età ed il sesso in base alle caratteristiche del piumaggio ed al tipo di muta effettuata (Svensson 1992) mediante l'utilizzo dei codici convenzionali EURING (Fig.2).

Località:				Data:				Reti:			Collaboratori:										
N	Anello			Specie	Data	Ora	Età	s	Tarso	G	M	3 ^a rem.	Ala c.m.	Becco	Stat.	Formula			Peso	OGC	
																E	WP	3 ^a			
1																					

Fig.2 Modello di scheda per le misurazioni biometriche.

Raccolta dei campioni: A seconda della taglia dell'esemplare catturato, per la raccolta del materiale fecale si è proceduto nel seguente modo:

- Esemplari di piccole dimensioni (Capinere, Sterpazzole, etc) → posizionamento del soggetto all'interno di un contenitore con fondo grigliato di dimensioni 9,5cm x 13,5 cm. Prelievo delle feci tramite tampone di cotone sterile o ansa in materiale plastico.
- Esemplari di taglia superiore (Merli, Upupe, etc) → esecuzione di un tampone cloacale mediante tampone di cotone sterile.

In totale si sono raccolti 364 campioni di materiale fecale da esemplari di 30 specie diverse appartenenti a 10 famiglie, quali *Sylviidae*, *Muscicapidae*, *Fringillidae*, *Prunellidae*, *Ploceidae*, *Paridae*, *Hirundinidae*,

Alaudidae, Sturnidae e Fasianidae, facenti parte degli Ordini *Passeriformes* e *Galliformes* (Tabella n.1).

Dei 364 campioni, a causa delle diverse esigenze di conservazione e trasporto, solo 169 sono stati raccolti e processati per la ricerca di *Campylobacter* spp., mentre sulla totalità dei campioni si è proceduto alla ricerca di *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica* ed enterobatteri produttori di Verocitotossine quali *E. coli* O157:H7, *Citrobacter* spp. e virus influenzali.

Tabella n. 1. Tabella delle specie esaminate

ORDINE	FAMIGLIE E SPECIE	Abitudini alimentari	N.di uccelli testati
P A S S E R I F O R M E S	Sylviidae		
	CAPINERA (<i>Sylvia atricapilla</i>)	AI	29
	STERPAZZOLINA (<i>Sylvia cantillans</i>)	EI	21
	OCCHIOCOTTO (<i>Sylvia melanocephala</i>)	EI	13
	STERPAZZOLA (<i>Sylvia communis</i>)	EI	8
	BECCAFICO (<i>Sylvia borin</i>)	AI	5
	LUI' VERDE (<i>Phylloscopus sibilatrix</i>)	AI	5
	LUI' GROSSO (<i>Phylloscopus trochilus</i>)	AI	8
	CANAPINA (<i>Hippolais icterina</i>)	AI	3
	LUI' PICCOLO (<i>Phylloscopus collybita</i>)	AI	1
	Muscicapidae		
	PETTIROSSO (<i>Erithacus rubecula</i>)	GFI	41
	USIGNOLO (<i>Luscinia megarhynchos</i>)	GFI	11
	MERLO (<i>Turdus merula</i>)	GFI	8
	BALIA NERA (<i>Ficedula hypoleuca</i>)	I	9
	STIACCINO (<i>Saxicola rubetra</i>)	EI	11
	USIGNOLO DI FIUME (<i>Cettia cetti</i>)	EI	4
	TORDO BOTTACCIO (<i>turdus philomelos</i>)	GFI	40
	PIGLIAMOSCHE (<i>Muscicapa striata</i>)	I	2
	CODIROSSO (<i>Phoenicurus phoenicurus</i>)	AI	1
	CULBIANCO (<i>Oenanthe oenanthe</i>)	GFI	2
	BALIA DAL COLLARE (<i>Ficedula albicollis</i>)	I	1
	Fringillidae		
	VERZELLINO (<i>Serinus serinus</i>)	GFG	2
	VERDONE (<i>Carduelis chloris</i>)	GFG	2
	Prunellidae		
	PASSERA SCOPAIOLO (<i>Prunella modularis</i>)	GFG	4
	Ploceidi		
	PASSERA SARDA (<i>Passer hispaniolensis</i>)	GFG	2
	Paridae		
	CINCIALLEGRA (<i>Parus major</i>)	AI	8
	CINCIARELLA (<i>Parus caeruleus</i>)	AI	3
Hirundinidae			
RONDINE (<i>Hirundo rustica</i>)	I	8	
Alaudidae			
ALLODOLA (<i>Alauda arvensis</i>)	EI	28	
Sturnidae			
STORNO (<i>Sturnus vulgaris</i>)	AI	24	
GALLIFORMES	Fasianidae		
	QUAGLIA (<i>Coturnix coturnix</i>)	EI	60
TOTALE			364

AI (Arboreal Insectivores) : insettivori arborei

EI (Herbaceous insectivores) : insettivori erbacei

GFI (Ground-Foraging Invertebrate Feeders): alimentazione a base di invertebrati terrestri

I (Aerial Insectivores) : insettivori aerei

GFG (ground-foraging granivores) : granivori terrestri

GFV (Ground foraging Vertebrate feeders): alimentazione a base di piccoli vertebrati terrestri

Inoltre, nell'ambito di uno studio e monitoraggio relativo all'avifauna migratoria di interesse venatorio, in particolare della Quaglia comune (*Coturnix coturnix*), nei periodi settembre/ottobre 2005, aprile/maggio e settembre/ottobre 2006, è stata svolta un'indagine sullo stato sanitario di questa specie, ai fini della conservazione della specie stessa e dello studio di un eventuale ruolo di questi esemplari nell'eco-epidemiologia dei virus influenzali aviari.

Sono stati raccolti, fino a questo momento, 225 campioni (tamponi cloacali e materiale fecale) di cui 60 nel periodo di migrazione autunnale (settembre/ottobre 2005), 108 nel periodo di migrazione primaverile (aprile/maggio 2006) e 57 nel periodo di migrazione autunnale (settembre/ottobre 2006).

I campioni raccolti sono stati posti in Soluzione salina tampone fosfato (PBS) con aggiunta di antibiotici (Penicillina e Streptomicina), in sospensione al 10-20% ad una temperatura di -18°C e poi inviati presso il Laboratorio di Virologia specializzata dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia ed Emilia Romagna per la ricerca di *Orthomyxovirus Tipo A*.

Inoltre, data l'emergenza degli ultimi mesi relativa al virus influenzale aviare e al ruolo degli uccelli selvatici migratori come potenziali serbatoi di infezione, ai fini di un'identificazione qualitativa di antigeni influenzali e di una prova diagnostica comparativa, contestualmente

alla cattura di ogni esemplare, sono stati effettuati Test immunocromatografici rapidi (AIV Ag Test e H5 AIV Ag Test), così da fornire uno screening immediato delle specie catturate, rispetto alla presenza di virus influenzali.

- Esami batteriologici: metodiche di isolamento

Salmonella spp. (ISO 6579)

- Semina dell'aliquota prelevata dalla sospensione di PBS in 5 ml di brodo di arricchimento Buffered Peptone Water (Oxoid) ed incubazione a 37°C per 24h.
- Semina della brodocoltura in brodo di arricchimento selettivo Rappaport-Vassiliadis Broth (Oxoid) ed incubazione a 42°C per 24h.
- Semina su piastra di agar selettivo Brilliant Green Agar (Oxoid) ed incubazione a 37°C per 24h.
- Identificazione delle colonie e semina su terreno selettivo cromogeno Rambach- agar (Merck) ed incubazione a 37°C per 24h.
- Identificazione delle colonie e semina su Triple Sugar Iron agar (Biolife) ed incubazione a 37°C per 24h.

- Identificazione biochimica delle colonie con sistema API20E (BioMerieux)
- Siero e fagotipizzazione dei ceppi isolati

Escherichia coli O157:H7 (ISO 16654)

- Semina in brodo di arricchimento Modified Trypticase Soy Broth ed incubazione a 41,5°C per 18h.
- Concentrazione di E.coli O157 mediante cattura su particelle immunomagnetiche e lavaggio con soluzione tampone.
- Inoculazione di 50 microlitri di particelle magnetiche su agar selettivo CT-SMAC ed incubazione a 37°C per 24h.
- Identificazione biochimica delle colonie con sistema API20E (BioMerieux)
- Identificazione sierologia con antisiero E.coli O157 (Latex test)
- Tipizzazione dei ceppi isolati e valutazione della produzione di verocitotossine tramite PCR multiplex.

Yersinia spp. (ISO 10273)

- Semina in brodo di arricchimento selettivo Yersinia PSB Broth (Biolife) ed incubazione a 25°C per 5gg
- Semina della brodocoltura su piastre di agar selettivo Yersinia Selective Agar-CIN(Oxoid) previa aggiunta di Yersinia Selective Supplement (Oxoid) ed incubazione a 30°C per 24-48h.

- Identificazione delle colonie e semina su Triple Sugar Iron agar (Biolife) ed incubazione a 37°C per 24h.
- Identificazione biochimica delle colonie con sistema API20E (BioMerieux)
- Sierotipizzazione dei ceppi isolati

Campylobacter spp. (ISO 10272)

- Semina in brodo di arricchimento selettivo Campylobacter Selective Enrichment Broth (Oxoid) ed incubazione a 42°C per 24-48h in condizioni di microaerofilia
- Semina della brodocoltura su piastre di agar selettivo Campylobacter Blood-Free Selective Agar-Modified CCDA-Preston (Oxoid) ed incubazione a 42°C per 48h in condizioni di microaerofilia
- Identificazione delle colonie su vetrino con colorazione di Gram
- Identificazione biochimica delle colonie con sistema API Campy (Biomerieux)
- Tipizzazione dei ceppi isolati con PCR multiplex.

Citrobacter spp.:

- Semina dell'aliquota prelevata dalla sospensione di PBS in brodo di arricchimento Buffered Peptone Water (Oxoid) ed

- Incubazione a 37°C per 24h.
- Semina su agar selettivo Mac Conckey Agar (Oxoid) ed incubazione a 37°C per 24h.
- Identificazione biochimica delle colonie con sistema API20E (BioMerieux)
- Tipizzazione dei ceppi isolati e valutazione della produzione di verocitotossine tramite PCR multiplex

- Esami virologici: metodiche di isolamento

Le metodiche di isolamento ed identificazione virale hanno seguito le procedure standard indicate dall'OIE, cioè:

- Inoculazione del campione in cavità allantoidea di uova embrionate di pollo SPF di 10 gg previa centrifugazione del campione a 3000 RPM per 15 minuti, e filtrazione attraverso filtri da 0,45micron;
- Prove di Emoagglutinazione per il rilievo di agenti emoagglutinanti;
- Inibizione dell'emoagglutinazione con antisieri specifici per i diversi subtipi HA di virus influenzale.

3.4. RISULTATI

I risultati maggiormente significativi dal punto di vista epidemiologico, si sono ottenuti soprattutto per quanto riguarda la diffusione di *C. jejuni* e *C. coli*. Su un totale di 169 esemplari esaminati si sono isolati 39 *Campylobacter* (23,1%), di cui 36 *C. jejuni* e 3 *C. coli*, con un range di positività nelle diverse specie che va dallo 0 al 46,3% (Tabella 2).

Le maggiori positività sono state riscontrate in 4 specie in particolare : la Capinera (*Sylvia atricapilla*) con il 41,6% di casi positivi, l'Occhiocotto (*Sylvia melanocephala*) con il 37,5%, il Pettiroso (*Erithacus rubecula*) con il 46,3%, e l'Usignolo (*Luscinia megarhynchos*) con il 30% di positività (Tabella n. 2).

FAMIGLIE E SPECIE	Abitudini alimentari	N. di uccelli testati	Campylobacter		
			N° di Positivi		% di Positività per specie
			C.jejuni	C.coli	
Sylviidae					
CAPINERA (<i>Sylvia atricapilla</i>)	AI	24	9\24	1\24	41,60%
STERPAZZOLINA (<i>Sylvia cantillans</i>)	EI	11	-	-	
OCCHIOCOTTO (<i>Sylvia melanocephala</i>)	EI	8	3\8	-	37,50%
STERPAZZOLA (<i>Sylvia communis</i>)	EI	7	-	-	
BECCAFICO (<i>Sylvia borin</i>)	AI	2	-	-	
LUI' VERDE (<i>Phylloscopus sibilatrix</i>)	AI	2	-	-	
LUI' GROSSO (<i>Phylloscopus trochilus</i>)	AI	2	-	-	
CANAPINA (<i>Hippolais icterina</i>)	AI	1	-	-	
LUI' PICCOLO (<i>Phylloscopus collybita</i>)	AI	1	-	-	
Muscicapidae					
PETTIROSSO (<i>Erithacus rubecula</i>)	GFI	41	17\41	2\41	46,30%
USIGNOLO (<i>Luscinia megarhynchos</i>)	GFI	10	3\10	-	30%
MERLO (<i>Turdus merula</i>)	GFI	10	2\10	-	20%
BALIA NERA (<i>Ficendula hypoleuca</i>)	I	9	-	-	
STIACCINO (<i>Saxicola rubetra</i>)	EI	8	1\8	-	12,50%
USIGNOLO DI FIUME (<i>Cettia cetti</i>)	EI	4	1\4	-	25%
TORDO BOTTACCIO (<i>Turdus philomelos</i>)	GFI	3	-	-	
PIGLIAMOSCHE (<i>Muscicapa striata</i>)	I	2	-	-	
CODIROSSO (<i>Phoenicurus phoenicurus</i>)	AI	1	-	-	
CULBIANCO (<i>Oenanthe oenanthe</i>)	GFI	1	-	-	
BALIA DAL COLLARE (<i>Ficendula albicollis</i>)	I	1	-	-	
Fringillidae					
VERZELLINO (<i>Serinus serinus</i>)	GFG	1	-	-	
VERDONE (<i>Carduelis chloris</i>)	GFG	1	-	-	
Prunellidae					
PASSERA SCOPAIOLA (<i>Prunella modularis</i>)	GFG	2	-	-	
Ploceidi					
PASSERA SARDA (<i>Passer hispaniolensis</i>)	GFG	2	-	-	
Paridae					
CINCIALLEGRA (<i>Parus major</i>)	AI	6	-	-	
CINCIARELLA (<i>Parus caeruleus</i>)	AI	1	-	-	
Hirundinidae					
RONDINE (<i>Hirundo rustica</i>)	I	8	-	-	
TOTALE		169	36	3	23,10%

Tabella n.2: *Campylobacter jejuni* e *C. coli* isolati

L'indagine rivolta alla ricerca della *Yersinia spp*, *Salmonella*, *Citrobacter* e *E. coli 0157:H7* ha coinvolto invece la totalità dei campioni (n°364) ma ha dato risultati meno significativi rispetto a quelli riscontrati per il *Campylobacter spp*.

La *Yersinia spp*.è stata isolata in soli 8 esemplari di cui 4 *Y. enterocolitica*, 1 *Y. frederiksenii*, 1 *Y.intermedia* e 2 ceppi di *Yersinia* atipica. La percentuale totale di positività delle specie catturate è stata del 2,40%.

In particolare, *Y. enterocolitica sierogruppo H5* è stata isolata da un esemplare di Allodola (*Alauda arvensis*), uno di Quaglia (*Coturnix coturnix*) con una percentuale di positività di specie rispettivamente di 3,5% e 1,6% e in due esemplari appartenenti alla Famiglia dei Silvidi, una Capinera (*Sylvia atricapilla*) e una Sterpazzolina (*S. cantillans*,) con una percentuale di positività di specie rispettivamente di 3,40% e 4,70%. La *Yersinia* atipica è stata invece isolata in 2 Pettirossi (*Erithacus rubecula*) con una percentuale di positività di specie del 4,80 %. La *Yersinia frederiksenii* è stata isolata in una sola occasione ,uno Stiaccino (*Saxicola rubetra*) con una percentuale del 2,40 %. Infine la *Yersinia intermedia* è stata evidenziata in un campione prelevato da una Cinciallegra (*Parus mayor*) con una percentuale di positività per specie del 12,50%.

Il *Citrobacter spp* ha mostrato un elevato indice di positività, essendo stato isolato in 21 dei 364 esemplari esaminati con una percentuale di

positività del 5,70%. In 8 dei 21 casi l'infezione è riferibile al *C. freundii*, mentre il *C. braakii* è responsabile dei restanti 13 casi di infezione. Le maggiori positività sono state evidenziate in particolare nelle seguenti specie: l'Occhiocotto (*Sylvia melanocephala*) con una percentuale del 15,30% di positivi; il Pettiroso (*Erythacus rubecula*) con il 12,10%; lo Stiaccino (*Saxicola rubetra*) con il 27%; l'Usignolo di fiume (*Cettia cetti*) con 25% ; la Cinciallegra (*Parus mayor*) con il 25% di percentuale di positività di specie.

Per quanto riguarda gli altri agenti di tossinfezione alimentare oggetto di questo studio, la *Salmonella* e l'*Escherichia coli* 0157:H7, non è stata rinvenuta alcuna positività. I risultati batteriologici sono riassunti in Tabella n.3.

Tutti i campioni esaminati per la ricerca di virus influenzali hanno dato esito negativo.

FAMIGLIE E SPECIE	Abitudini alimentari	N.di uccelli testati	Yersinia spp		Salmonella		E coli 0157		Citrobacter spp		
			N° dei Positivi	% di Positività per specie	N° dei Positivi	% di Positività per specie	N° dei Positivi	% di Positività per specie	N° dei Positivi		% di Positività per specie
									C.freundii	C.braakii	
Sylviidae											
CAPINERA (Sylvia atricapilla)	AI	29	1*	3,40%					1	2	10,30%
STERPAZZOLINA (Sylvia cantillans)	EI	21	1*	4,70%					1	1	9,50%
OCCHIOCOTTO (Sylvia melanocephala)	EI	13							1	1	15,30%
STERPAZZOLA (Sylvia communis)	EI	8									
BECCAFICO (Sylvia borin)	AI	5									
LUI' VERDE (Philloscopusibilatrix)	AI	5									
LUI' GROSSO (Philloscopustrochilus)	AI	8									
CANAPINA (Hippolais icterina)	AI	3									
LUI' PICCOLO (Philloscopus collybita)	AI	1									
Muscicapidae											
PETTIROSSO (Erithacus rubecula)	GFI	41	2**	4,80%					2	3	12,10%
USIGNOLO (Luscinia megarhynchos)	GFI	11								1	9%
MERLO (Turdus merula)	GFI	8								1	12,50%
BALIA NERA (Ficedula hypoleuca)	I	9								1	11,10%
STIACCINO (Saxicola rubetra)	EI	11	1***	2,40%						3	27,20%
USIGNOLO DI FIUME (Cettia cetti)	EI	4							1		25%
TORDO BOTTACCIO (turdus philomelos)	GFI	40									
PIGLIAMOSCHE (Muscicapa striata)	I	2									
CODIROSSO (Phoenicurus phoenicurus)	AI	1									
CULBIANCO (Oenanthe oenanthe)	GFI	2									
BALIA DAL COLLARE (Ficedula albicollis)	I	1									
Fringillidae											
VERZELLINO (Serinus serinus)	GFG	2									
VERDONE (Carduelis chloris)	GFG	2									
Prunellidae											
PASSERA SCOPAIOLA (Prunella modularis)											
Ploceidi											
PASSERA SARDA (Passer hispaniolensis)	GFG	2									
Paridae											
CINCIALLEGRA (Parus major)	AI	8	1****	12,50%					2		25%
CINCIARELLA (Parus caeruleus)	AI	3									
Hirundinidae											
RONDINE (Hirundo rustica)	I	8									
Alaudidae											
ALLODOLA (Alauda arvensis)	EI	28	1*	3,50%							
Fasianidae											
QUAGLIA (Coturnix coturnix)	EI	60	1*	1,66%							
Sturnidae											
STORNO (Sturnus vulgaris)	AI	24									
TOTALE		364	9	2,40%	0	0%	0	0%	8	13	5,70%

Tabella n.3: Risultati di isolamenti batterici

* *Yersinia enterocolitica* sierogruppo H5

** *Yersinia atypica*

*** *Yersinia frederiksenii*

**** *Yersinia intermedia*

3.5. CONSIDERAZIONI

Dai dati sopra riportati sembrano emergere considerazioni diverse riguardo al coinvolgimento dell'avifauna selvatica campana nell'epidemiologia degli agenti di tossinfezione alimentare in relazione al tipo di microrganismo coinvolto.

Tra i patogeni maggiormente implicati nelle tossinfezioni alimentari dell'uomo, il *Campylobacter* sembra destare una maggiore preoccupazione in rapporto al numero elevato degli isolamenti riscontrati. La notevole incidenza dell'infezione in specie sinantropiche come i Passeriformi, inoltre, ci permette di dedurre, in accordo con altri autori, che questi potrebbero costituire una fonte importante per l'infezione umana .

Il raro riscontro della *Salmonella* e della *Yersinia* negli uccelli selvatici da noi esaminati sembrerebbe confermare quanto riportato da altri autori in studi epidemiologici condotti in Europa e nel mondo. In particolare, lo scarso riscontro della *Salmonella* potrebbe essere legato all'intermittenza con cui gli animali infetti eliminano il germe attraverso le feci. Non ci sembra, comunque, errato affermare che, nell'epidemiologia di questi patogeni, la fauna selvatica rivesta solo un ruolo marginale .

Preoccupante, invece, è il notevole riscontro dell'infezione di *Citrobacter*. Si tratta di un patogeno emergente che sta richiamando l'attenzione di molti ricercatori a causa della gravità dell'infezione umana da esso sostenuta. Poco si conosce sul coinvolgimento della fauna selvatica nell'epidemiologia di questo agente zoonosico e il nostro lavoro cerca di fornire maggiore chiarezza in merito .

Il nostro studio sembra, inoltre, fornire dati discordanti rispetto ad altri autori riguardo alla presenza dell'*E. coli* 0157:H7 negli uccelli selvatici. La mancanza di positività in tutti gli animali sottoposti alla nostra indagine sembrerebbe indicarci una loro completa estraneità nell'epidemiologia del germe.

In conclusione, possiamo affermare che è necessario attuare in ambito nazionale e internazionale un adeguato programma di monitoraggio degli agenti zoonosici nell'avifauna selvatica al fine sia di acquisire conoscenze più dettagliate sulla loro epidemiologia ,sia per sviluppare strategie valide per limitare il rischio di diffusione dell'infezione all'uomo .

MONITORAGGIO SANITARIO:
Indagine sulla presenza di
agenti patogeni di interesse zoonosico
nell'avifauna selvatica campana

APPENDICE I

Aree di studio:

Fig 1: Pisciotta (a) e Capo Palinuro (b) nel *Parco Nazionale del Cilento e Vallo di Diano*



a)



b)



b)

Campionamento

Fig 2: Reti mist-nets (a); Particolare della tasca della mist-net (b).



a)



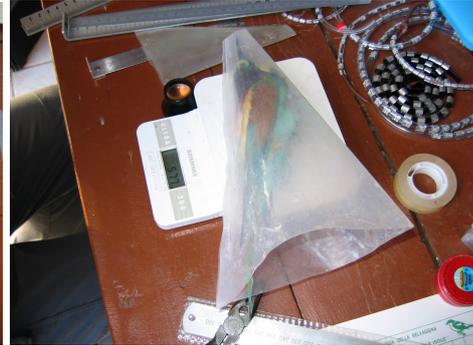
b)

Rilevazioni biometriche

Fig 3: Esempi di misurazioni biometriche effettuate dall'INFS.



a) Attrezzature



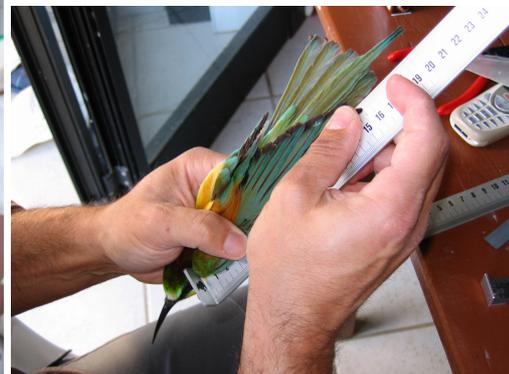
b) Valutazione del peso



c) Determinazione dell'età attraverso l'osservazione delle piume sulle ali



d) Misurazione del tarso



e) Misurazione dell'ala



f) Inanellamento

Specie maggiormente catturate



Canapino maggiore (*Hippolais interina*)



Cinciallegra (*Parus major*)



Lui verde (*Phylloscopus sibilatrix*)



Passero solitario (*Monticola solitarius*)



Lui piccolo (*Phylloscopus collybita*)



Codirosso (*Phoenicurus phoenicurus*)



Balia nera (*Ficedula Hypoleuca*)



Stiaccino (*Saxicola rubetra*)



Usignolo (*Luscinia megarhynchos*)



Rondine rossiccia (*Hirundo daurica*)



Culbianco (*Oenanthe oenante*)



Passera sarda (*Passer hispaniolensis*)



Ghiaidaia (*Gallurus glandarius*)



Upupa (*Upupa epops*)



Cutrettola (*Motacilla flava*)



Verzellino (*Serinus serinus*)



Quaglia (*Coturnix coturnix*)



Tortora selvatica *Streptopelia turtur*



Gruccione (*Merops apiaster*)

4. CONTROLLO SANITARIO DI RAPACI ACCOLTI IN CENTRI DI RECUPERO DELLA FAUNA SELVATICA.

Oltre allo studio dell'epidemiologia delle malattie trasmissibili, la medicina veterinaria potrebbe avere un ruolo fondamentale nella gestione e nella conservazione di un patrimonio naturale di inestimabile valore, quale la fauna selvatica.

La nascita di molti centri, che si occupano del recupero e della reintroduzione in natura di specie selvatiche, sta sensibilizzando l'opinione pubblica nei confronti della tutela della fauna selvatica, fatto testimoniato dalle sempre più numerose segnalazioni e consegne di animali da parte di privati presso i Centri di Recupero della Fauna Selvatica (CRAS). Esistono, attualmente, in Italia circa 40 Centri di Recupero della Fauna Selvatica (CRAS), di cui 25 gestiti dal WWF ed altri 15 da Associazioni ambientaliste. Le attività all'interno dei CRAS sono finalizzate all'accoglienza e recupero di animali selvatici feriti o debilitati allo scopo di una loro reintroduzione in natura. Purtroppo, l'eterogeneità di specie e dei luoghi di ritrovamento, il frequente silenzio anamnestico, gli eventuali trattamenti antibiotici effettuati

d'urgenza, sono fattori che sovente impediscono una esatta diagnosi sulle cause di morte di questi uccelli.

Una maggiore conoscenza di quella che è la fisiologia dell'avifauna selvatica, nonché delle patologie più frequenti tipiche di specie, potrebbe, sicuramente, dare importante ausilio nella gestione e conservazione della fauna selvatica.

4.1. I CENTRI DI RECUPERO DELLA FAUNA SELVATICA (CRAS)

- Storia e legislazione

Lo sviluppo di una prima attività organizzata di cura e riabilitazione della fauna selvatica si fa risalire già agli anni settanta, andandosi poi a concretizzare maggiormente all'inizio degli anni '80, quando i primi gruppi di volontari si impegnarono in un'attività costante di raccolta e di accoglienza di animali selvatici feriti o debilitati.

Da questa prima attività hanno preso poi il via i primi CRR (Centri di Recupero Rapaci), trasformatisi, poi, in CRAS (Centri Recupero Animali Selvatici), che si sono, poi moltiplicati sull'intero territorio nazionale, anche sullo stimolo di altri Enti ed Associazioni ambientaliste, arrivando attualmente a raccogliere ogni anno diverse migliaia di esemplari appartenenti alla fauna selvatica.

Queste strutture e le esperienze acquisite dal personale addetto, in

merito alla tutela e la gestione della fauna selvatica, rappresentano un inestimabile patrimonio sia per lo Stato che per le stesse organizzazioni ambientaliste. In maniera più o meno organizzata, nel corso degli ultimi due decenni, diverse sono state le iniziative a livello locale, che con alterne fortune, hanno consentito alle varie associazioni ambientaliste di rappresentare un punto di riferimento per ogni socio, semplice cittadino o per le stesse amministrazioni locali.

Attualmente in Italia solo il WWF e la LIPU continuano a gestire oltre 25 centri di recupero, rappresentando in alcune realtà locali le uniche associazioni in grado di dedicarsi ad attività inerenti il recupero di specie selvatiche ritrovate in difficoltà, dagli uccelli ai mammiferi, fino ad arrivare al recupero di tartarughe marine. Altri Enti e Associazioni ambientaliste contribuiscono per almeno altri 15 Centri di Recupero in Italia.

Il limite maggiore che si riscontra nella gestione e tutela della fauna selvatica, oltre la continua carenza di fondi, è sicuramente la mancanza di direttive legislative chiare che regolino prima di tutto le competenze in merito.

Con la “legge quadro” n. 157 dell’11 febbraio 1992, che detta norme in materia di protezione della fauna selvatica omeoterma e regola il prelievo venatorio, si è finalmente considerata la fauna selvatica un

bene comunitario e più precisamente patrimonio indisponibile dello Stato e dunque soggetta alla sua tutela.

Nonostante i notevoli passi avanti ed i progressi che tale legge ha comportato e le numerose direttive comunitarie emanate in questi ultimi decenni e recepite in ambito nazionale, le norme in materia di detenzione, cura e riabilitazione della fauna sono ancora vaghe e creano situazioni di estrema variabilità dal punto di vista pratico.

Infatti, la legge 157/92 attribuisce genericamente alle Regioni il compito di “emanare norme in ordine di soccorso, detenzione temporanea e successiva liberazione di fauna selvatica in difficoltà” (Art. 4 comma 6). Successivamente viene specificato che per fauna selvatica s’intendono “le specie di mammiferi e uccelli dei quali esistono popolazioni viventi stabilmente o temporaneamente in stato di naturale libertà nel territorio nazionale”. Spetta, dunque, alle Regioni ed alle Province Autonome il compito di emanare specifiche norme che definiscano i particolari di quella che viene indicata come: cura, detenzione temporanea e successiva liberazione di fauna selvatica in difficoltà.

Un’ approfondita analisi del quadro normativo regionale e delle strutture oggi presenti in Italia, dalla Sicilia alla Valle d’Aosta, ci offre, a distanza di 10 anni dal II seminario nazionale sui CRAS organizzato dal WWF Italia, un quadro disomogeneo della situazione, sia in

termini di norme legislative locali che di impegno economico, conseguenza della diversità di approccio e di volontà di attuazione della legge quadro. La carenza di precise norme su come le strutture devono essere costruite e su come, soprattutto, devono essere gestite per rispondere alle finalità di legge, favorisce, a volte, la nascita di strutture al limite della legalità, il cui livello qualitativo è ben lontano dai principi etici che devono ispirare l'attività di recupero, cura e riabilitazione degli animali selvatici e, in generale, l'organizzazione del sistema dei Centri di Recupero in Italia.

- I CRASE: Centri di Recupero della Fauna Selvatica ed Esotica

Negli ultimi anni in Italia, grazie alla promulgazione della apposita legislazione in materia CITES, si è notevolmente incrementato il numero di esemplari vivi di animali e piante protetti dalla Convenzione di Washington sottoposti a sequestro. L'applicazione di tali norme nazionali di riferimento ha comportato necessariamente lo sviluppo di un'attività repressiva dei reati, con il conseguente sequestro e la successiva confisca di tutti quegli esemplari appartenenti a specie illegalmente commerciate. Le attività di indagine condotte in primo luogo dal Corpo Forestale dello Stato hanno portato al sequestro di specie animali protette, di estremo valore per la

conservazione e che rappresentano allo stato attuale un importantissimo patrimonio per la collettività internazionale. L'acquisizione di questi esemplari ha di conseguenza acuito la necessità di disporre di idonei luoghi dove poterli custodire, anche per consentire il semplice e lineare prosieguo delle attività di indagine e repressione dei reati contestati. La mancanza di simili strutture, legata al sequestro e la confisca di un ingente numero di animali ha di fatto comportato l'aggravarsi di alcuni problemi già emersi negli anni passati. La situazione di emergenza venutasi a creare ha portato il WWF a ricercare una soluzione nella creazione di una Rete Nazionale di Centri adeguati per ospitare temporaneamente o stabilmente tutti questi animali. Tali strutture sono state promosse anche grazie alla collaborazione del Ministero dell'Ambiente ed operano oggi per la corretta gestione in cattività delle specie animali sequestrate in Italia, la cui custodia in cattività deve essere valorizzata attraverso la definizione di più obiettivi che possano andare dal raggiungimento della loro riproduzione ex-situ, qualora opportuno, all'importantissima opera di informazione e coinvolgimento dei cittadini sui problemi di conservazione di queste come delle altre migliaia di specie animali che la CITES protegge.

4.2. RUOLO DELLA MEDICINA VETERINARIA NELLA GESTIONE DELLA FAUNA SELVATICA

Come precedentemente indicato, la sempre più reale necessità di dovere intervenire su specie tra loro diversissime ha portato il WWF a promuovere negli ultimi anni alcuni CRASE (Centri di Ricovero per Animali Selvatici ed Esotici) i quali non intervengono ordinariamente su esemplari di specie autoctone oggetto di recupero, ma solo per esemplari oggetto di sequestro, confisca, abbandono, ritrovamento o nella promozione di programmi di mantenimento a lungo termine in cattività di specie in pericolo o rare, adoperandosi, preferenzialmente, per la gestione di tutta quella fauna esotica sempre più presente sul nostro territorio.

La giusta considerazione che tali strutture oggi rappresentino nel contesto nazionale a volte gli unici punti di riferimento a livello territoriale, consente di potere affermare che i CRAS ed i CRASE rappresentano dei veri e propri laboratori a cielo aperto attraverso i quali potere conoscere la fauna del territorio interessato e potere promuovere ricerche di carattere sanitario, ecologico, etologico e non in ultimo di conservazione in cattività.

La Medicina Veterinaria ricopre, all'interno dei Centri di recupero, molteplici funzioni.

Dal punto di vista strettamente clinico, il veterinario ha il compito di seguire tutte le fasi di soccorso, cura, recupero e riabilitazione delle specie in difficoltà, quindi:

- Primo soccorso
- Stabilizzazione delle condizioni generali del soggetto
- Esame clinico
- Terapia medica e chirurgica d'urgenza
- Esami diagnostici d'urgenza
- Determinazione della possibilità di recupero dell'esemplare
- Gestione delle quarantene e delle terapie mediche di recupero
- Gestione delle terapie riabilitative intensive
- Gestione delle fisioterapie pre-rilascio

Inoltre, in vista degli innumerevoli aspetti sanitari legati al recupero, cura e riabilitazione di animali selvatici, la salvaguardia della sicurezza e della salute del personale che opera in un centro di recupero fauna selvatica ed esotica è un aspetto critico del successo delle attività della struttura e una garanzia della professionalità degli operatori.

Il medico veterinario, quindi, ha il compito di prevenire la diffusione di infezioni dagli animali ospitati al personale del Centro o tra animale e animale, attraverso un controllo sanitario periodico dei soggetti

ospitati all'interno dei CRAS, con particolare riferimento agli agenti patogeni, batterici e virali, potenzialmente zoonosici.

Tutto ciò dovrebbe portare a considerare come prioritario che tutti i Centri oggi esistenti promuovano collaborazioni con Enti, Università o specifici gruppi di ricerca nazionali ed internazionali che possano vedere investigare aspetti veterinari come quelli comportamentali, cercando anche prioritariamente di promuovere adeguate indagini sulla riabilitazione e la riuscita del reinserimento in natura della fauna soccorsa.

*Controllo sanitario di rapaci accolti in
Centri di Recupero della Fauna Selvatica.*

PARTE SPERIMENTALE

Attraverso la collaborazione tra la Sezione di Patologia Aviare del Dipartimento di Patologia e Sanità Animale e il Centro Recupero Animali Selvatici (CRAS) WWF Italia “*Oasi del Bosco di S.Silvestro*”, sezione di Caserta, abbiamo potuto controllare lo stato sanitario degli animali ospitati nel Cras, mediante il prelievo di campioni fecali, e, attraverso necrosopie periodicamente effettuate su carcasse di animali morti all’interno del Centro di Recupero, cercare di fornire una casistica sulle lesioni necroscopiche riscontrate con maggiore frequenza.

4.3. MATERIALI E METODI

- Campionamento

Esemplari in degenza

All’interno del Centro di Recupero della Fauna Selvatica di Caserta si è proceduto all’esecuzione di tamponi cloacali da ogni singolo esemplare in degenza (Fig. 1 a-b-c), attraverso l’utilizzo di tamponi di cotone (Fig. 2) sterili per un totale di 46 campioni posti, poi, in appositi terreni di trasporto, in attesa della processazione in laboratorio.

I terreni trasporto utilizzati sono stati Stuart Medium (Oxoid) per i campioni da sottoporre ad esami per la ricerca di Enterobatteri

patogeni, AMIES Medium (Oxoid) con aggiunta di carbone per i campioni da sottoporre ad esami per la ricerca di *Campylobacter* spp.

Sono state esaminate 9 specie diverse appartenenti agli Ordini *Strigiformes*, *Falconiformes* e *Accipitriformes* (Tabella n.4)

Tabella n.4 : Specie esaminate all'interno del CRAS.

ORDINE	FAMIGLIA	SPECIE	N° degli esemplari testati
<i>STRIGIFORMES</i>	<i>TYTONIDAE</i>	BARBAGIANNI (<i>Tyto alba</i>)	1
	<i>STRIGIDAE</i>	CIVETTA (<i>Athene noctua</i>)	3
	<i>STRIGINAE</i>	GUFO COMUNE (<i>Asio otus</i>)	1
ALLOCCO (<i>Strix aluco</i>)		4	
<i>FALCONIFORMES</i>	<i>FALCONIDAE</i>	GHEPPIO (<i>Falco tinnunculus</i>)	12
		FALCO CUCULO (<i>Falco vespertinus</i>)	1
		FALCO PELLEGRINO (<i>Falco peregrinus</i>)	3
<i>ACCIPITRIFORMES</i>	<i>ACCIPITRIDAE</i>	FALCO PECCHIAIOLO (<i>Pernis apivorus</i>)	5
		POIANA (<i>Buteo buteo</i>)	16
TOTALE ESEMPLARI ESAMINATI			46

Esemplari deceduti

In totale si sono effettuate 176 autopsie di esemplari appartenenti principalmente agli Ordini *Falconiformes* e *Strigiformes*, per un totale di 14 specie diverse. Le specie più rappresentative sono state Poiana (*Buteo buteo*), Gheppio (*Falco tinnunculus*) e Falco pellegrino (*Falco peregrinus*) per l'Ordine dei *Falconiformes*, e Civetta (*Athene noctua*) e Barbagianni (*Tyto alba*) per l'Ordine degli *Strigiformes*.

Nel corso delle necroscopie effettuate, si è proceduto alla raccolta di campioni d'organo da sottoporre, nel caso in cui lo stato di

conservazione della carcassa lo permettesse, ad esami di laboratorio al fine di isolare agenti patogeni potenzialmente zoonosici.

- Esami batteriologici

I campioni raccolti (materiale fecale, tamponi cloacali e campioni d'organo) sono stati processati secondo le metodiche descritte nel paragrafo 3.3 (Esami batteriologici: metodiche di isolamento) per la ricerca di agenti patogeni batterici potenzialmente zoonosici, quali *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp, *Yersinia enterocolitica*, agenti responsabili di tossinfezione alimentare nell'uomo, nonché di *Escherichia coli* O157:H7 e di altri enterobatteri, produttori di Verocitotossine, quali *Citrobacter freundii* e *Citrobacter braakii*, responsabili di enteriti batteriche e sindromi correlate nell'uomo.

4.4. RISULTATI

- Esempari in degenza

E' stata rinvenuta la *Salmonella* in 3 dei 46 esemplari esaminati (6,25%). La *Yersinia enterocolitica* è stata isolata in un unico caso, una Poiana (*Buteo buteo*), facendo registrare una positività del 2,1%. Il *Citrobacter* spp si è rinvenuto in 9 casi (19,5%), di cui 3 sono da riferire al *C. braakii* e 6 al *C. freundii* (Tabella n.5).

Tabella n.5 : Isolamenti batterici

FAMIGLIE E SPECIE	Abitudini alimentari	N° di uccelli testati	Yersinia enterocolitica		Salmonella		Citrobacter	
			N° di Positivi	% di Positività per specie	N° di Positivi	% di Positività per specie	N° di Positivi	% di Positività per specie
							C.braakii	C.freundii
Tytonidae								
BARBAGIANNI (<i>Tyto alba</i>)	GFV	1						
Strigidae								
CIVETTA (<i>Athene noctua</i>)	GFV	3			1	33,33%	1	33,33%
Striginae								
GUFO COMUNE (<i>Asio otus</i>)	GFV	1					1	100%
ALLOCCO (<i>Strix aluco</i>)	GFV	4			4	25%	1	1
Falconidae								
GHEPPIO (<i>Falco tinnunculus</i>)	GFV/I	12					1	3
FALCO CUCULO (<i>Falco vespertinus</i>)	E/I	1						
FALCO PELLEGRINO (<i>Falco peregrinus</i>)	GFV	3						
Accipitridae								
FALCO PECCHIAIOLO (<i>Pernis apivorus</i>)	I	5			1	20%		
POIANA (<i>Buteo buteo</i>)	GFV	16	1	6,25%			1	6,25%
TOTALE		46	1\46	2,10%	3\46	6,50%	3\46	6\46

In nessun caso è stato isolato *E. Coli* 0157:H7 e il *Campylobacter*. Per quello che concerne quest'ultimo microrganismo, in virtù della sua notevole labilità nell'ambiente, la negatività potrebbe essere legata all'inadeguato trasporto in laboratorio piuttosto che alla reale assenza nelle specie considerate.

Limiti riscontrati Il controllo sanitario degli esemplari accolti nel Centro ha presentato non poche difficoltà, soprattutto dal punto di vista epidemiologico.

L'intento di verificare la diffusione di patogeni di interesse zoonosico nelle specie selvatiche, aveva come presupposto la necessità di raccogliere campioni fecali di soggetti nel momento della loro prima accoglienza, prima di qualsiasi intervento umano, nell'alimentazione e nella terapia. Spesso gli esemplari da noi esaminati avevano, ovviamente, già ricevuto i primi soccorsi e, soprattutto, trattamenti

antibiotici del caso. Inoltre, bisogna considerare che la maggior parte dei soggetti pervenuti nel Centro avevano soggiornato per tempi più o meno lunghi nelle abitazioni delle persone che avevano rinvenuto l'esemplare in difficoltà.

Questo, dal punto di vista di ricerca prettamente scientifica, ha condizionato enormemente i risultati ottenuti. Di conseguenza, si è poi, continuata la pratica di controllo sanitario su esemplari vivi escusivamente come supporto agli operatori del Centro per il controllo sanitario periodico al fine del rilascio del soggetto.

- Necroscopie

Lesioni anatomopatologiche

Tutti gli esemplari esaminati presentavano uno scadente stato di nutrizione.

Traumi sono stati riscontrati nel 52 % dei volatili ed erano rappresentati, nella maggioranza dei casi, da fratture ossee dovute a colpi di arma da fuoco (Fig 1). I segmenti ossei maggiormente interessati sono stati omero e radio-ulna.

Depositi di urati sono stati riscontrati nel 25,7% dei casi in esame con conseguente uricosi (Fig.2) lieve, espressa da deposito esclusivamente a livello di ureteri o grave e generalizzata espressa dall'interessamento di tutte le sierose, ricoperte da precipitati di aspetto gessoso.

Le lesioni necroscopiche dell'apparato gastroenterico non riferibili ad infestioni parassitarie, erano principalmente di natura emorragica (Fig.5). Il contenuto del tratto intestinale si presentava di colore marrone/nerastro, spesso accompagnato da completa assenza di materiale alimentare. In molti casi l'enterite emorragica si accompagnava ad un quadro congestizio-emorragico generalizzato dei visceri, presenza di sangue in cavità addominale ed anemia generalizzata, quadro che poteva far ipotizzare un avvelenamento da anticoagulanti. Nel 21,6 % dei casi sono stati riscontrate lesioni nodulari a livello intestinale che facevano pensare ad una coligranulomatosi, spesso successivamente confermata dagli esami di laboratorio.

Lesioni epatiche erano presenti nel 14,9 % dei soggetti. Poiché lo stato di conservazione delle carcasse era scadente, le alterazioni più facilmente apprezzabili sono state le modificazioni di volume dell'organo. Sono state osservate, talvolta, anche lesioni degenerative consistenti in statosi (Fig.4) o consistenza friabile dell'organo. Alcuni soggetti presentavano focolai necrotici, tipici della necrosi coagulativa batterica, in sede epatica che, quando accompagnati da splenomegalia, facevano sospettare un'infezione preesistente alla morte o causa della stessa. Gli esami batteriologici non sempre hanno confermato la diagnosi di sospetto: a causa del cattivo stato di conservazione delle

carcasse, non sempre si è potuto dare ai risultati di laboratorio un effettivo valore diagnostico.

Le infestioni da parassiti intestinali (Fig.6) sono state riscontrate nel 7,4% dei casi. Sono state identificate, nel contenuto intestinale, uova o forme adulte riferibili ai generi *Capillaria*, *Ascaridia* ed altri nematodi non identificati. Nella maggior parte dei casi, le parassitosi erano causa di semplice enterite catarrale, a volte di enterite emorragica. Non si è notata alcuna corrispondenza tra l'entità dell'infestione e lo stato di nutrizione dell'ospite che stava ad indicare una simbiosi ospite/parassita generalmente senza conseguenze. Solo in pochi casi si poteva imputare la morte del soggetto all'azione meccanica ostruttiva dei parassiti.

Le micosi sono state riscontrate in 2 soggetti (1,3%). Le lesioni, di aspetto tipico, si localizzavano a livello dei sacchi aerei toracici e dei polmoni espresse da granulomi nodulari appiattiti di colore giallastro e di consistenza fibrosa (Fig.9). Gli esami colturali hanno evidenziato crescite morfologicamente riferibili ad *Aspergillus* spp. Lesioni micotiche da *Candida*spp. Si sono riscontrate anche in un'esemplare di Poiana che presentava una lesione specifica a livello del cavo orale (Fig.10).

Si sono riscontrate, inoltre, lesioni proliferative a livello epatico e splenico (Fig. 7), probabilmente paratubercolari, ma non confermate

dagli esami di laboratorio, nonché lesioni tubercolari a carico di polmone e stomaco ghiandolare (Fig.8).

Ordine/Specie	N.	Lesioni					
		Traumi	Uricosi	Gastrointestinali	Epatiche	Parassitarie	Micotiche
FALCONIFORMES							
<i>Falco tinnunculus</i>	36	20	11	11	4	2	-
<i>Falco peregrinus</i>	17	5	1	2	1	-	-
<i>Buteo buteo</i>	41	18	7	4	6	3	1
<i>Accipiter nisus</i>	15	2	4	2	1	1	-
<i>Pernis apivorus</i>	3	1	-	-	1	-	-
<i>Falco columbarius</i>	2	-	-	1	-	-	-
<i>Circus cyaneus</i>	1	-	-	1	-	-	-
<i>Circus pygargus</i>	1	1	-	-	-	-	-
<i>Circus aeruginosus</i>	1	-	1	-	-	-	1
STRIGIFORMES							
<i>Athene noctua</i>	23	16	10	7	4	3	-
<i>Asio otus</i>	11	6	2	1	-	1	-
<i>Tyto alba</i>	16	4	2	-	3	1	-
<i>Strix aluco</i>	5	3	-	2	-	-	-
<i>Otus scops</i>	4	1	-	1	2	-	-
Totale	176	77	38	32	22	11	2

Tabella 6: Specie esaminate e lesioni riscontrate

I risultati da noi ottenuti evidenziano come, purtroppo, i traumi da arma da fuoco siano la più frequente causa di morte di uccelli rapaci, pur non rientrando queste specie tra quelle cacciabili (Tabella n.6).

Esami batteriologici

Nel corso dell'indagine condotta presso il Centro di Recupero della Fauna Selvatica del Bosco di San Silvestro di Caserta, è stata rinvenuta la *Salmonella* in 3 dei 46 esemplari esaminati (6,25%). La *Yersinia enterocolitica* è stata isolata in un unico caso, una Poiana (*Buteo buteo*), facendo registrare una positività del 2,1%. Il *Citrobacter spp* si è rinvenuto in 9 casi (19,5%), di cui 3 sono da riferire al *C. braakii* e 6 al *C. freundii* (Tabella n.7).

In nessun caso è stato isolato *E. Coli 0157:H7* e il *Campylobacter*. Per quello che concerne quest'ultimo microrganismo, in virtù della sua notevole labilità nell'ambiente, la negatività potrebbe essere legata all'inadeguato trasporto in laboratorio piuttosto che alla reale assenza nelle specie considerate.

Tabella n.7: Isolamenti batterici in corso di necroscopie

FAMIGLIE E SPECIE	Abitudini alimentari	N° di uccelli testati	Yersinia enterocolitica		Salmonella		Citrobacter		
			N°di Positivi	% di Positività per specie	N°di Positivi	% di Positività per specie	N°di Positivi		% di Positività per specie
							C.braakii	C.freundii	
Tytonidae									
BARBAGIANNI (<i>Tyto alba</i>)	GFV	1							
Strigidae									
CIVETTA (<i>Athene noctua</i>)	GFV	3			1	33,33%		1	33,33%
Striginae									
GUFO COMUNE (<i>Asio otus</i>)	GFV	1					1		100%
ALLOCCO (<i>Strix aluco</i>)	GFV	4			4	25%	1	1	50%
Falconidae									
GHEPPIO (<i>Falco tinnunculus</i>)	GFV/I	12					1	3	33,33%
FALCO CUCULO (<i>Falco vespertinus</i>)	EI/I	1							
FALCO PELLEGRINO (<i>Falco peregrinus</i>)	GFV	3							
Accipitridae									
FALCO PECCHIAIOLO (<i>Pernis apivorus</i>)	I	5			1	20%			
POIANA (<i>Buteo buteo</i>)	GFV	16	1	6,25%				1	6,25%
TOTALE		46	1\46	2,10%	3\46	6,50%	3\46	6\46	19,50%

4.5. CONSIDERAZIONI

Le lesioni anatomo-patologiche numericamente più rilevanti risultano le uricosi e le lesioni gastroenteriche, spesso emorragiche, non di eziologia parassitaria. La precipitazione e conseguente deposito di urati nei tessuti può essere il risultato di lesioni renali (alterazione e degenerazione dei tubuli renali) o prerenali (disidratazione o dieta iperproteica). Una così alta percentuale di uricosi negli animali esaminati potrebbe essere giustificata dal tipo di alimentazione alla quale sono sottoposti gli ospedalizzati. Gli uccelli feriti, inizialmente, sono sottoposti ad alimentazione forzata, poi, quando sono in grado di nutrirsi autonomamente, viene loro fornito cibo giornalmente. I tunnel di volo dove vengono tenuti i rapaci per la riabilitazione, per quanto adeguati, non sostituiscono la normale attività motoria di queste specie. Di conseguenza la quantità di cibo somministrata risulta in surplus rispetto all'effettivo fabbisogno di un rapace in cattività. La degradazione proteica porta conseguentemente alla formazione di scorie azotate, negli uccelli rappresentate dagli urati, che, sommandosi a quelle prodotte dal catabolismo proteico nei tessuti necrotizzati, ne provocano l'innalzamento del livello ematico. La debilitazione di questi soggetti, spesso accompagnata a forte disidratazione, sarebbe poi la causa della precipitazione di queste sostanze nei tessuti.

Le lesioni gastroenteriche emorragiche sono state riscontrate principalmente in soggetti particolarmente debilitati e quindi incapaci di nutrirsi. Ciò farebbe riferire la lesione a stati di digiuno forzato e allo stress. Il quadro congestizio-emorragico generalizzato che spesso accompagnava la semplice enterite emorragica solo in pochi casi ha trovato spiegazione in isolamenti batterici di *Salmonella typhimurium*, della quale i rapaci sono, in natura, considerati normali reservoir (Reche et al., 2003; Wernery et al., 1998). L'anamnesi di questi soggetti riportava morte improvvisa non preceduta da alcun sintomo apparente e che sopravveniva nella maggior parte dei casi ad un cambiamento della normale routine del soggetto. In particolare, due Gheppi dai quali è stata isolata la Salmonella, che presentavano i segni anatomopatologici tipici di salmonellosi iperacuta, sono venuti a morte durante il trasporto prima della liberazione. Questo ci fa porre l'attenzione sulla sensibilità di queste specie a qualsiasi fattore stressante che le porta ad una condizione di immunodepressione secondaria ed ad una possibilità di maggiore escrezione di agenti patogeni dei quali i selvatici sono frequentemente portatori sani.

Da imputare a stress da cattività sono anche le lesioni micotiche riscontrate e le infestioni parassitarie massive causa di morte di alcuni soggetti. Le lesioni micotiche, nonostante l'estrema diffusione delle spore fungine in natura, risultano molto rare nell'avifauna allo stato

libero. In effetti, i casi di Aspergillosi osservati riguardavano soggetti ricoverati da tempo all'interno del centro nei quali stress, prolungate terapie antibiotiche, sovraffollamento e scarsa igiene hanno verosimilmente favorito lo sviluppo della malattia.

Anche le parassitosi intestinali sarebbero riconducibili alle stesse cause, infatti in natura queste specie raggiungono un ottimo equilibrio ospite/parassita dimostrato dalla non correlazione tra elmintiasi intestinale e stato di nutrizione del soggetto. Alcuni dei volatili esaminati presentavano, quindi, un'elmintiasi massiva spesso ostruttiva del tratto intestinale (soprattutto duodeno e digiuno). Pertanto, si ritiene che ulteriori informazioni sulle patologie spontanee degli uccelli selvatici possano rivelarsi utili non solo alla gestione sanitaria dei CRAS, ma anche alla gestione e la conservazione di queste specie nel loro ambiente naturale. Inoltre, i rapaci, essendo per abitudini alimentari al vertice della catena alimentare, potrebbero risultare ottimi indicatori di salute di un ecosistema, fungendo da sentinelle di eventuali infezioni presenti nell'ambiente.

*Controllo sanitario di rapaci accolti in
Centri di Recupero della Fauna Selvatica.*

APPENDICE II

Esemplari in degenza nel Centro di recupero di Caserta



Fig 1: a) Aquila minore



Fig. 1: b) Gufo comune



Fig.1:c) Poiana in voliera di riabilitazione



Fig. 2: Tampone cloacale

Lesioni anatomopatologiche



Fig 3: a) Lesioni da armata fuoco



Fig 3: b) Particolare di pallino di piombo

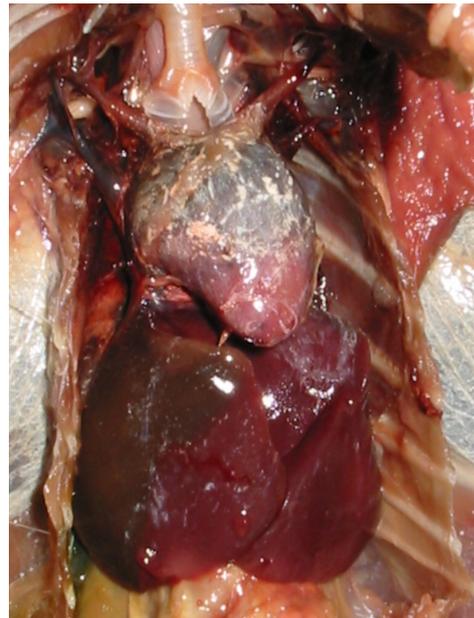


Fig 4: Uricosi a livello di ureteri e a livello cardiaco ed epatico

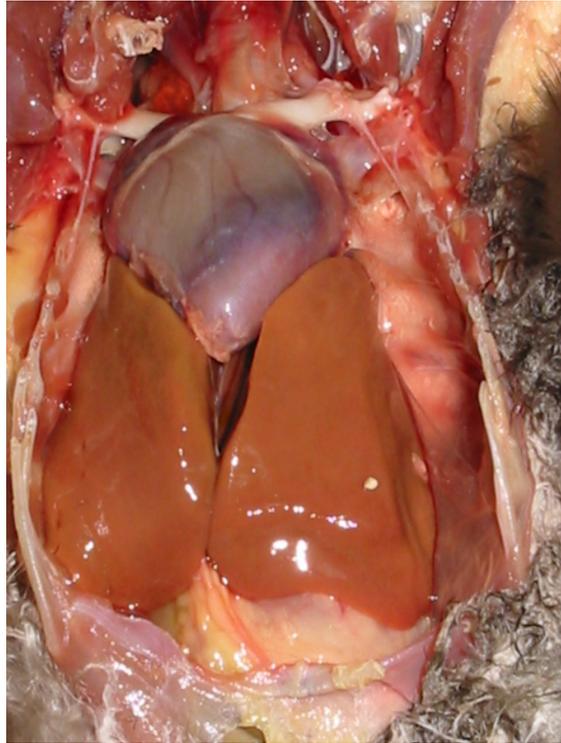


Fig. 4: Statosi epatica



Fig.5: Duodenite emorragica



Fig.6: Massiva elmintiasi intestinale

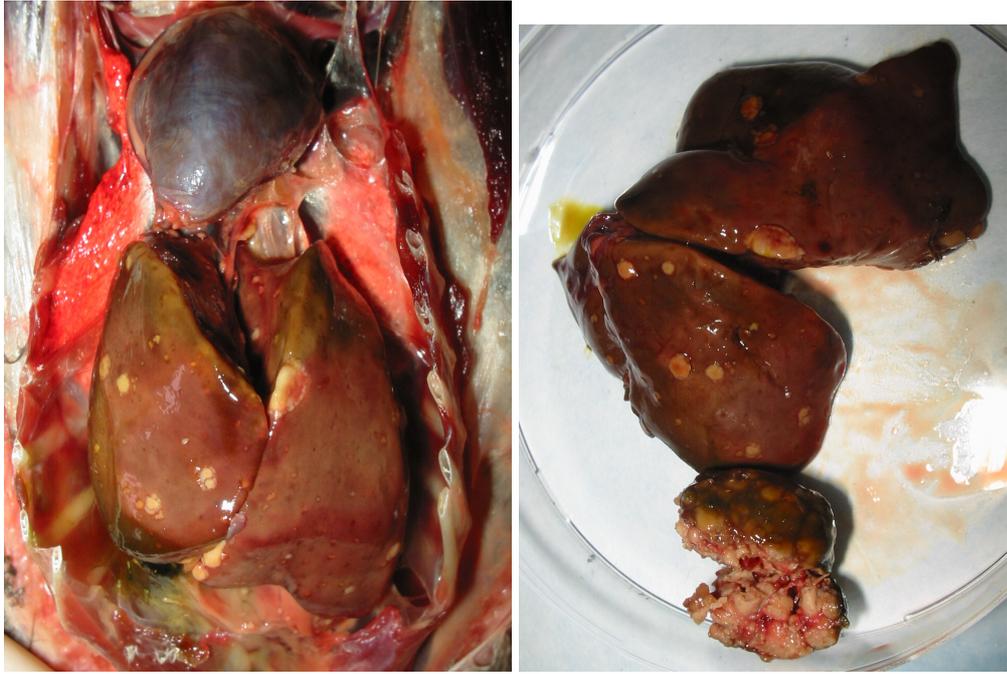


Fig.7) Lesioni a carattere proliferatici a livello epatico e splenico

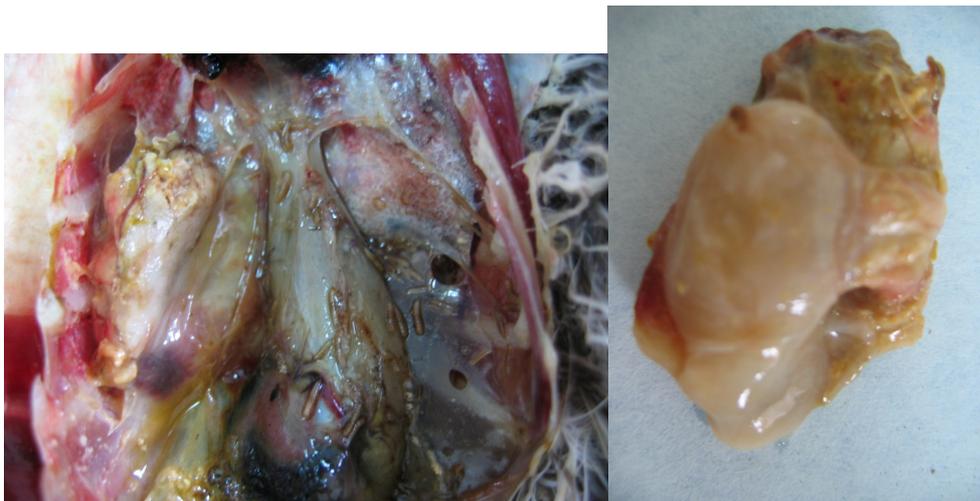


Fig.8; Lesioni tubercolari

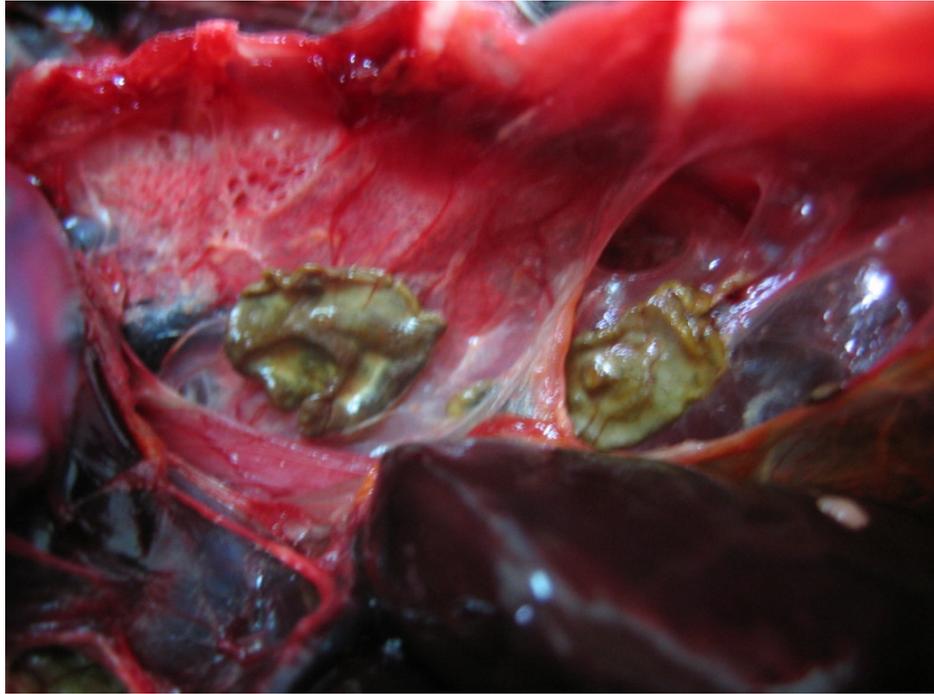


Fig.9) Lesione aspergillare a livello polmonare e dei sacchi aerei



Fig.10) Lesione del cavo orale in una Poiana:
si isolavano *Candida spp* e *Capillaria spp*

5. STUDIO DI MALATTIE TIPICHE DI SPECIE: SINDROME ISCHEMICA DEL GHEPPIO (*Falco tinnunculus*)

La Sindrome Ischemica è una patologia ad eziologia sconosciuta caratterizzata da necrosi asettica seguita da mummificazione e distacco delle estremità distali degli arti (zampa e ala).

E' stata segnalata per la prima volta nel 1996 da Delogu e coll. in esemplari di Gheppio (*Falco tinnunculus*). Gli stessi AA hanno avanzato come ipotesi eziopatogenetica una trombosi della rete vascolare arteriosa tarsale e della biforcazione dell'arteria ulnare, secondaria ad un'infezione da emoparassiti del genere *Plasmodium* spp. e/o *Haemoproteus* spp., in soggetti immunodepressi (Delogu M. et al, 1996).

Il Gheppio (*Falco tinnunculus*) è uno tra i più comuni rappresentanti della famiglia dei Falconidi in Italia. Il frequente rinvenimento in natura di individui di questa specie in condizioni di difficoltà e il loro invio ai Centri di Recupero, ha consentito l'osservazione di questa Sindrome, apparentemente tipica della specie, caratterizzata, appunto, da necrosi ischemica delle estremità distali degli arti.

La stagionalità di comparsa, la localizzazione delle lesioni e le caratteristiche anatomopatologiche delle stesse indicano come questa

sindrome si discosti dall' unica patologia similare, riscontrabile in letteratura, nota con il nome di Wing Tip Oedema.

5.1. LA MALATTIA NEL GHEPPIO

- Aspetti clinici

La malattia colpisce le estremità distali degli arti con lesioni caratteristiche, sia nella localizzazione che nell'evoluzione. Gli esemplari affetti da sindrome ischemica non presentano ottundimento dello stato del sensorio, né alterazioni delle grandi funzioni organiche: sono clinicamente sani.

Le lesioni presentano localizzazioni caratteristiche all'altezza del terzo prossimale del carpo-metacarpo e/o tarso-metatarso, interessando spesso ala e zampa controlaterali.

Caratteristica è anche l'evoluzione delle lesioni. Nelle prime fasi della malattia, l'ala colpita appare ischemizzata, in assenza di edema da stasi.

Alcuni soggetti, in questa fase, mostrano tendenza ad autotraumatismi fino ad arrivare all'amputazione dell'arto. In caso contrario si giunge, comunque, in 2-3 settimane al distacco spontaneo del segmento interessato. Stessa caratteristica evoluzione si osserva a carico dell'estremità dell'arto pelvico. In uno stadio precoce della malattia, la pigmentazione giallo limone tipica della specie tende progressivamente

all'imbrunimento. Scompare, poi, la capacità flessio-estensoria delle falangi e l'estremità, disidratandosi, assume un caratteristico aspetto mummificato. A questo stadio della malattia si evidenzia un limite netto tra tessuto vivo e tessuto morto solitamente a livello del terzo prossimale del tarso-metatarso o a carico delle falangi a seconda del segmento colpito. In tempi analoghi a quelli riscontrati per l'ala, la parte colpita, se non automutilata, si distacca spontaneamente (Delogu M. et al, 1996; Baiano A. et al, 2003).

- Ipotesi eziopatogenetica

Delogu e coll., unico riferimento in letteratura circa questa sindrome, hanno avanzato come ipotesi eziopatogenetica una trombosi della rete vascolare arteriosa (aa. ulnari, aa. tibiali, aa. tarsali, aa. digitali laterali e mediali) a livello di biforcazioni della stessa ed in presenza di alterazioni endoteliali, causate da emoparassiti del genere *Plasmodium* spp. e/o *Haemoproteus* spp.

Secondo Delogu, i globuli rossi che veicolano il parassita, darebbero vita al fenomeno detto “*sludging*”, una sorta di agglutinazione o impilamento delle emazia in grado di dare origine a trombi.

Secondo questa ipotesi, si creerebbe la Triade di Virchow, *conditio sine qua non* possa originare un fenomeno trombotico. Il fattore emodinamico è rappresentato dalle biforcazioni dei vasi arteriosi interessati e, in particolare, della costituzione anatomica delle arterie

tibiali della gamba che, a livello del terzo prossimale del tarsometatarso si ramificano nella fitta rete tarsale, prima di riunirsi nuovamente nell'arteria tarsale, riducendosi notevolmente di diametro. Il fattore ematico è rappresentato dallo “*sludging*” e il terzo fattore dalle alterazioni endoteliali evidenziate nei reperti istologici.

5.2. SIDROME ISCHEMICA E WING TIP OEDEMA

Wing Tip Oedema (WTO) rappresenta l'unica patologia reperibile in letteratura, simile alla Sindrome Ischemica. La WTO è stata descritta in differenti specie aviary, non solo falconiformi, come Waldrapp ibis (*Geronticus eremita*), Victoria crowned pigeon (*Goura victoria*), Blue-winged pitta (*Pitta brachyura*) (Forbes N.A. and N.H. Harcourt-Brown, 1991) and peregrine (*Falco peregrinus*), lanner (*Falco biarmicus*), lugger (*Falco lugger*), Harris Hawk (*Parabuteo unicinctus*) (Lyon, D.G., and R. Wilkinson, 1991).

E' una malattia caratterizzata da edema e processi essudativi localizzati alle estremità distali degli arti, osservata esclusivamente nei mesi invernali più freddi (Cooper J., 2002).

In particolare, le lesioni osservabili nella Wing tip oedema sono rappresentate da un imponente edema di uno o entrambi i carpi e

protrusione di vescicole contenenti un essudato chiaro che circondano i follicoli delle penne primarie.

Anche l'eziologia di questa sindrome è incerta ma la sua osservazione nei mesi più freddi dell'anno ha lasciato ipotizzare una correlazione con "morsi del freddo".

Appare chiaro dalla descrizione della Sindrome Ischemica fatta in precedenza che le due patologie mostrano numerose differenze riguardanti localizzazione ed evoluzione delle lesioni e possibile eziologia ed è quindi nostra opinione che si debbano considerare due fenomeni non correlati.

STUDIO DI MALATTIE TIPICHE DI SPECIE:

Sindrome Ischemica del Gheppio

(Falco tinnunculus)

PARTE SPERIMENTALE



5.3. MATERIALI E METODI

In Aprile 2004, due esemplari Poiana (*Buteo buteo*), provenienti dal Centro di Recupero della Fauna Selvatica (CRAS-WWF) "Oasi di San Silvestro" (Ce), sono stati portati al Centro Sperimentale di Varcaturò.

Entrambi gli esemplari mostravano segni di Sindrome ischemica.

Essendo, secondo la nostra conoscenza, il primo caso di sindrome ischemica osservato nella Poiana, gli esemplari sono stati tenuti sotto osservazione per 3 settimane, al fine di verificare le caratteristiche delle lesioni, in localizzazione ed evoluzione e per approfondire alcuni aspetti ematologici della sindrome.

Sono stati effettuati prelievi di sangue a distanza di 10 giorni su ogni esemplare al fine di verificare la presenza di parassiti ematici durante diverse fasi della malattia e per valutare eventuali anomalie nella morfologia cellulare e in parametri ematologici, quali PVC ed Hgb.

Dopo un attenta osservazione clinica dell'evoluzione della malattia e i prelievi di sangue, gli esemplari sono stati sottoposti ad eutanasia per via intramuscolare.

Successivamente si è effettuato l'esame necroscopico degli esemplari provvedendo al prelievo di campioni d'organo da sottoporre ad esami istologici e microbiologici.

- Aspetti clinici

Entrambi gli esemplari non presentavano compromissione dello stato del sensorio nè dell'appetito, infatti, dopo una prima fase di adattamento, rispondevano positivamente all'imbeccamento.

Ad un primo esame visivo esterno, le aree colpite non mostravano segni di trauma ai tessuti molli e le radiografie, effettuate in precedenza dai responsabili del CRAS, escludevano fratture ossee. Inoltre, l'osservazione al microscopio delle penne attorno all'area affetta dalle lesioni, escludevano traumi da elettrocuzione. Tutto ciò escludeva il trauma come causa di malattia.

Le lesioni erano caratteristicamente localizzate a livello delle regioni omero-radioulnare destra e tarsometatarsale sinistra nel primo soggetto (A) e a livello delle regioni omero-radioulnare sinistra e tarsometatarsale destra nel secondo (B). Da notare come sia rispettata la caratteristica localizzazione delle lesioni su arti controlaterali.

Le ali affette mostravano un'area scura, senza edema da stasi o essudato fluente dalla parte, caratterizzata in entrambi i casi dall'esposizione della parte prossimale dell'ulna. L'area interessata appariva necrotica e nel corso di due settimane si osservava l'evoluzione della lesione in gangrena secca e successiva mummificazione della parte.

Durante il primo stadio della malattia, entrambi gli esemplari tendevano all'automutilazione finalizzata all'autoamputazione dell'arto. In caso contrario, l'evoluzione della lesione tendeva al distacco spontaneo delle ali affette da mummificazione.

Per quanto riguarda gli arti pelvici, si osservava il progressivo cambiamento di colore della parte che dal giallo, tipico di specie, passava al grigio. Gradualmente, i soggetti perdevano le capacità motoria e flessore-estensoria della zampa interessata, la parte tendeva, poi, alla disidratazione e alla mummificazione con conseguente distacco dell'arto.

Da sottolineare che entrambi i soggetti, nelle tre settimane in cui sono state ospite al Centro, si presentavano in ottimo stato, reattive alla presenza umana e, soprattutto, all'alimentazione mediante imbeccamento. Non c'è mai stato bisogno di ricorrere ad alimentazione forzata o trattamenti terapeutici di sostegno.

- Campionamento

- ***Ematologia:*** Da ogni esemplare sono stati effettuati due prelievi di sangue dalla vena ulnare dell'ala affetta, a distanza di 10 giorni.

Da ogni campione è stata effettuata la determinazione di PVC attraverso capillari per microematocrito e centrifugazione a 12000 rpm per 5 minuti. La determinazione dell'Hgb è stata ricavata dal valore di PVC, utilizzando la formula di Campbell ($Hgb = PVC/3$) (Campbell, T. W. , 1995) secondo la quale l'Emoglobina occuperebbe la terza parte del PVC.

Da ogni campione sono stati allestiti 5 strisci su vetrino colorati attraverso la colorazione di Wright's al fine di osservare l'eventuale presenza di emiparassiti.

Esame istologico: in sede necroscopica sono state prelevate porzioni di tessuto dalle estremità distale e prossimale affette da lesione, rispettivamente degli arti inferiori e superiori, conservate, in attesa di esame istologico, in Formalina al 10%.

Esame batteriologico: in sede necroscopica, sono stati prelevate porzioni d'organo (fegato, milza, intestino e cervello) ed effettuati tamponi delle aree affette al fine di ricercare agenti patogeni batterici, potenzialmente responsabili del fenomeno.

5.4. RISULTATI

- Ematologia

Il valore del PVC determinato era 27% e 23%, rispettivamente negli esemplari A e B. Il range di normalità del PVC in questa specie va dal 35% al 55%. Anche i valori di concentrazione dell'Hb, rispettivamente di 9 g/dl and 7.6 g/dl per gli esemplari A e B, sono, di conseguenza, risultati bassi rispetto ai valori normali (11-18 g/dl)(Wernery, R. et al., 2004).

L'osservazione al microscopio degli strisci di sangue, non ha mostrato presenza di emiparassiti appartenenti al genere *Plasmodium* e/o *Haemoproteus*. In uno degli esemplari (A) si è invece riscontrata la presenza di un altro emoparassita, appartenente al genere *Leucocytozoon*, protozoo di frequente riscontro nel sangue dei rapaci, generalmente correlato a stati di immunodepressione, ma asintomatico (Cooper, J., 1991; Campbell, T. W., 1995).

Lo stato di anemia, indicato dai bassi valori riscontrati di PVC ed Hb, è stato confermato dalla morfologia cellulare notata al momento dell'osservazione al microscopio dei vetrini allestiti: si sono notati, infatti, segni di policromasia cellulare, reticolocitosi e, soprattutto, una massiva presenza di forme cellulari immature, quali rubrociti e

mielociti. Tutti questi segni sono, generalmente, indice di anemia rigenerativa (Campbell, T. W., 1995).

- *Necroscopia*

Ad un esame visivo delle masse muscolari, non si evidenziavano segni di cachessia e/o di atrofia muscolare.

I quadri anatomopatologici osservati erano aspecifici e caratterizzati da aumento di volume del fegato e della milza, enterite catarrale e lesioni degenerative a carico dei reni. Gli esami parassitologici eseguiti su contenuto intestinale, prelevato in sede necroscopica, hanno dato esito negativo.

Dagli esami batteriologici eseguiti su campioni d'organo di fegato, milza, intestino e cervello, prelevati in sede necroscopica, si isolavano batterici di probabile irruzione secondaria quali *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp, e Stafilococchi. Da tamponi eseguiti a livello delle lesioni a livello degli arti è stato possibile isolare Stafilococchi spp coagulasi negativi e *Pseudomonas* spp.

- *Istologia*

L'esame istologico eseguito su sezioni allestite a partire da porzioni di segmenti delle estremità distale e prossimale, rispettivamente degli arti inferiori e superiori, rilevava quadri di trombosi arteriosa.

5.5. CONSIDERAZIONI

In primo luogo, bisogna sottolineare la rilevanza di questo lavoro in rapporto al primo segnalamento di casi di Sindrome Ischemica nella Poiana, specie in cui, in base alle nostre ricerche bibliografiche, non esistono precedenti in letteratura.

Molti autori, inoltre, hanno assimilato questa sindrome a quella che viene definita Wing Tip Oedema, patologia caratterizzata da un imponente edema di uno o entrambi i carpi e protrusione di vescicole contenenti un essudato chiaro che circondano i follicoli delle penne primarie, ad incidenza stagionale invernale e, di conseguenza, associata, da un punto di vista eziologico, a morsi da freddo . Le lesioni osservate nelle Poiane e descritte in questo lavoro hanno mostrato notevoli differenze tra le due sindromi, per quanto concerne localizzazione ed evoluzione delle lesioni e possibile eziologia. Infatti, la sindrome da noi osservata nelle sue fasi iniziali si manifesta attraverso aree necrotiche, non edematose e senza la presenza di essudato, localizzate tipicamente a livello delle porzioni prossimali degli arti (regioni omero-radioulnare e/o tarso-metatarsica). Successivamente, le lesioni evolvono verso la gangrena secca seguita da mummificazione e distacco dell'arto affetto. Inoltre, gli esemplari sono stati ritrovati in Aprile e non in inverno: ciò può permettere di

escludere il freddo come responsabile delle lesioni. I dati raccolti, attraverso l'osservazione dei due esemplari di Poiana permettono di discostare la Sindrome Ischemica dalla WTO, suggerendone uno studio, nei prossimi casi, mirato e maggiormente specifico al fine di una determinazione eziologia discostata da quella ipotizzata da freddo. Riguardo localizzazione, evoluzione delle lesioni e origine trombotica della sindrome, i nostri risultati confermano gli studi finora condotti (Delogu et al., 1996; Baiano et al., 2003), mentre si discostano dall'ipotesi eziopatogenetica avanzata da Delogu che riconduce la sindrome ad un'infezione da emiparassiti appartenenti al genere *Haemoproteus* spp. e *Plasmodium* spp. Anche Baiano et al., nella sua esperienza con esemplari di Gheppio non aveva riscontrato emiparassiti negli strisci di sangue degli esemplari affetti dalla sindrome, ma aveva imputato questo dato negativo alla breve fase eritrocitaria nel ciclo di *Haemoproteus* spp. e *Plasmodium* spp. I ripetuti prelievi fatti agli esemplari di Poiana, allo scopo di verificare la presenza di emiparassiti in diversi stadi della malattia e le continue negatività dei risultati, ci consentono di escludere l'ipotesi eziopatogenetica della malattia avanzata Delogu e quella di Baiano riguardo la possibilità di non riscontro di emiparassiti in conseguenza dell'intermittenza della loro fase eritrocitaria.

STUDIO DI MALATTIE TIPICHE DI SPECIE:

Sindrome Ischemica del Gheppio

(Falco tinnunculus)

APPENDICE III



*Sindrome ischemica nella Poiana:
lesione localizzata a livello della regione omero-radioulnare*



Fig 1: a) Necrosi asettica dell'ala. Omero e ulna esposte



Fig 1: b) Evoluzione della lesione: dopo 10 gg è sopravvenuto il distacco spontaneo dell'arto interessato.

***Sindrome ischemica nella Poiana:
lesione localizzata a livello della regione del tarso-metatarso***



Fig 2: a) Stadio iniziale della malattia: la tipica pigmentazione giallastra delle zampe tende all'imbrunimento. Graduale perdita delle capacità flessio-estensorie.



Fig 2: b) Evoluzione della lesione: disidratazione e mummificazione dell'arto affetto.

6. MORTALITÀ NELL'AVIFAUNA SELVATICA:

78 GRU CENERINE (*GRUS GRUS*) MORTE PRESSO IL LAGO DI CONZA DELLA CAMPANIA(AV)

Nel Novembre 2004 sul lago di Conza (AV) in un Oasi del WWF è avvenuto un caso di morte improvvisa di un intero stormo di Gru Cenerine (*Grus grus*), particolarmente allarmante sia da un punto di vista naturalistico, essendo questa specie annoverata nella lista rossa degli esemplari in pericolo di estinzione, sia da un punto di vista di tutela dell'ambiente, se consideriamo la fauna selvatica come indicatore biologico di salute e integrità dell'intero ecosistema che la ospita.

La collaborazione con gli operatori del CRAS di Caserta ci ha permesso di partecipare attivamente alla comprensione di quello che era accaduto fornendo le strutture per gli esami necroscopici degli esemplari recuperati e l'effettuazione di tutti gli esami microbiologici, istologici e virologici, al fine di una diagnosi di morte.

6.1 PRESENTAZIONE DEL CASO

L'intero stormo, presumibilmente proveniente dai paesi del Nord Europa e diretto verso l'Africa, è stato visto sorvolare la zona di Conza della Campania (AV) e poi planare, sulle acque del lago di Conza, all'interno di un'oasi protetta del WWF. Il giorno successivo gli esemplari sono stati ritrovati tutti morti, disseminati sia in acqua che sulle sponde del lago.



Le operazioni di recupero delle carcasse, operate dai responsabili dell'Oasi, sono durate diversi giorni. Sono stati contati un totale di 78 esemplari morti, giovani e adulti, non è stato osservato nessun esemplare che abbia ripreso il suo viaggio verso l'Africa.

Le carcasse recuperate sono state trasportate presso il CRAS di Caserta e poste sotto sequestro secondo quanto previsto dal

protocollo del WWF. Alcuni esemplari sono stati trasportati all'Istituto Zooprofilattico di Portici in provincia di Napoli al fine di condurre accurate analisi di laboratorio atte a determinare la presunta causa di morte.

Dato l'elevato numero di soggetti venuti a morte, l'ottimo stato di nutrizione, espresso dall'abbondante riserva di grasso tipica degli uccelli in migrazione, il normale sviluppo delle masse muscolari, il nostro sospetto diagnostico si è orientato verso un evento a decorso sicuramente acuto-iperacuto, probabilmente di origine virale, prendendo in considerazione, in particolare, Ortho e Paramyxovirus, o di origine tossica, pensando soprattutto a contaminanti di origine ambientale e veleni ad attività anticoagulante (rodenticidi) quali il warfarin, il pindone e il difacinone.

I pochi dati anamnestici a nostra disposizione, avvalorano maggiormente l'ipotesi di un fenomeno di origine virale, in ragione del mancato utilizzo di insetticidi e/o pesticidi nella zona del lago di Conza, oasi protetta del WWF, e del mancato ritrovamento di carcasse di altre specie animali quali topi, volpi o pesci.

*MORTALITÀ NELL'AVIFAUNA SELVATICA:
78 Gru cenerine (Grus grus) morte presso il
lago di Conza della Campania(AV)*

PARTE SPERIMENTALE



6.2. MATERIALI E METODI

30 delle 78 carcasse recuperate dagli operatori del WWF sulle sponde del Lago di Conza, sono state trasportate presso il Centro Sperimentale di Varcaturò.

Al fine di giungere ad una diagnosi di certezza che spiegasse la morte di un numero così elevato di uccelli selvatici, su ogni carcassa si è effettuato un accurato esame necroscopico nella cui sede si è provveduto al prelievo di vari campioni d'organo per l'effettuazione di esami batteriologici, virologici, istologici e tossicologici.

- Rilevazione delle misure biometriche

Prima di procedere all'esame necroscopico della carcassa, ogni soggetto è stato sottoposto, da un inanellatore ufficiale INFS, alla misurazione di alcuni parametri biometrici, ai fini di una classificazione tassonomica di specie.

Ciascun esemplare è stato misurato per: lunghezza, peso, ala destra e sinistra, becco, tarso, apertura alare, III remigante, H+B [Somma della lunghezza del becco e della fronte] (cm), Nalospì [Distanza tra la punta del becco e l'estremità distale della narice ipsilaterale] (cm), Bill F. [Distanza tra la punta del becco e le prime piume sull'estremità opposta dello stesso] (cm).

Il peso era variabile per i maschi da 4.1 Kg a 6.3 Kg con una media di 5.5 Kg e, per le femmine, da 3.4 Kg a 5.7 Kg con una media di 4.6 Kg; tra le due ali si è riscontrata una perfetta simmetria, con lunghezza media dell'ala di 59 cm nei maschi e di 54.7 cm nelle femmine. La lunghezza del tarso era di 24.89 cm nei maschi e di 23.11 cm nelle femmine; l'H+B era di 16.8 cm nei maschi e di 17.3 cm nelle femmine; il Nalospa era di 53.9 cm nelle femmine e di 61.8 cm nei maschi; il Bill F. era di 10.2 cm nelle femmine e 10.8 cm nei maschi; l'Apertura alare raggiungeva nei maschi i 2.19 m e nelle femmine i 2.10 m.

- Campionamento

In sede necroscopica, al fine dell'espletamento di indagini di ordine batteriologico, virologico, istologico e tossicologico, sono stati prelevati vari campioni e porzioni di organi.

Esame batteriologico: si è proceduto al prelievo di porzioni di fegato, milza, intestino e polmone. Dato lo stato di conservazione delle carcasse, si è pensato di procedere al prelievo del midollo spinale tramite ago da biopsia pediatrico, al fine di limitare il più possibile le contaminazioni dovute ai processi putrefattivi. Ogni campione è stato posto in PBS in attesa di essere processato per la ricerca di Salmonella, Pasteurella multocida e Clostridi.

Esame virologico: sono stati prelevati campioni di fegato, milza, intestino, comprese le tonsille cecali, rene e cervello. I campioni sono stati conservati in Soluzione salina tampone fosfato (PBS) con aggiunta di antibiotici (Penicillina e Streptomicina), in sospensione al 10-20% ad una temperatura di -18°C e poi inviati presso il Laboratorio di Virologia specializzata dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia ed Emilia Romagna per la ricerca di *Orthomyxovirus Tipo A* e *Paramyxovirus*.

Esame istologico: sono state prelevate porzioni di fegato, milza, intestino, stomaco ghiandolare, polmone e rene. I campioni prelevati sono stati conservati in Formalina al 10% ed inviati presso la Sezione di Anatomia Patologica, Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica della Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Milano.

Esame tossicologico: in sede necroscopica, sono stati prelevati fegato, reni, stomaco ghiandolare e suo contenuto, cervello e tessuto adiposo. I campioni sono stati conservati ad una temperatura di -20°C in attesa di essere inviati per le analisi dei residui presso il Laboratorio Biochimico dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (Padova), grazie alla collaborazione del Sezione di Tossicologia della Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Padova.

- Esami di laboratorio: metodiche utilizzate

Esame batteriologico: Per l'isolamento batterico sono state seguite le procedure operativa standard consigliate *dall'Office International Des Epizooties (OIE)*.

Salmonella spp.

- Semina dell'aliquota prelevata dalla sospensione di PBS in 5 ml di brodo di arricchimento Buffered Peptone Water (Oxoid) ed incubazione a 37°C per 24h.
- Semina della brodocoltura in brodo di arricchimento selettivo Rappaport-Vassiliadis Broth (Oxoid) ed incubazione a 42°C per 24h.
- Semina su piastra di agar selettivo Brilliant Green Agar (Oxoid) ed incubazione a 37°C per 24h.
- Identificazione delle colonie e semina su terreno selettivo cromogeno Rambach- agar (Merck) ed incubazione a 37°C per 24h.
- Identificazione delle colonie e semina su Triple Sugar Iron agar (Biolife) ed incubazione a 37°C per 24h.
- Identificazione biochimica delle colonie con sistema API20E (BioMerieux)
- Siero e fagotipizzazione dei ceppi isolati

Pasteurella multocida.

- Semina dell'aliquota prelevata dalla sospensione di PBS in 5 ml di brodo di arricchimento Brain Heart Infusion Broth (Oxoid) ed incubazione a 37°C per 24h.
- Semina su piastra di Agar Sangue (BioMerieux) ed incubazione a 37°C per 24h.
- Identificazione biochimica delle colonie con sistema API20E (BioMerieux)

Clostridi

- Semina del campione in Cooked Meat Medium (Oxoid) ed incubazione a 37°C per 24h in anaerobiosi.
- Semina su piastra di Agar Sangue (BioMerieux) ed incubazione a 37°C per 24h.
- Identificazione biochimica delle colonie con sistema API20A (BioMerieux)

Esame virologico: Ogni campione è stato sottoposto ad esame per la ricerca di Ortho e Paramyxovirus, presso il Laboratorio di Virologia specializzata dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia ed Emilia Romagna. Le metodiche di isolamento ed identificazione virale hanno seguito le procedure standard indicate dall'OIE, cioè:

- Inoculazione del campione in cavità allantoidea di uova embrionate di pollo SPF di 10 gg previa centrifugazione del campione a 3000 RPM per 15 minuti, e filtrazione attraverso filtri da 0,45micron;
- Prove di Emoagglutinazione per il rilievo di agenti emoagglutinanti;
- Inibizione dell'emoagglutinazione con antisieri specifici per i diversi subtipi HA di virus influenzale e per i diversi sierotipi di Paramyxovirus aviare.

Esame istologico: I campioni prelevati in sede necroscopica sono stati conservati in Formalina al 10% e processati presso la Sezione di Anatomia Patologica della Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Milano ricorrendo a metodiche routinarie di microscopia ottica.

Esame tossicologico: I campioni prelevati in sede necroscopica sono stati sottoposti ad analisi per la ricerca di residui di sostanze tossiche ampiamente diffuse nell'ambiente marino e terrestre.

In particolare sono state misurate le concentrazioni di:

- Piombo, Cadmio e Cromo, come indicatori di inquinamento da carburanti.
- Para-para DDE (metabolita remoto del DDT), pesticidi organoclorurati (OC), organofosforati (OP) e Carbamati (CB).

La ricerca di residui di metalli pesanti è stata effettuata attraverso la tecnica spettrofotometrica in assorbimento atomico previa mineralizzazione dei campioni biologici con HNO₃ (Acido nitrico) e HClO₄ (Acido perclorico). (Lucisano, 1994)

Per la ricerca di residui di Organoclorurati (OC), Organofosforici (OP) e Carbamati (CB), i campioni sono stati estratti con cyclohexane-dichloromethane 50:50, purificati con una soluzione di Gel Permeation Chromatography (GPC) e determinati ricorrendo alla Gas Cromatografia (CG).

Tale metodica consente infatti tanto la generica purificazione dell'estratto quanto l'isolamento e la determinazione quali-quantitativa dei singoli componenti.

6.3. RISULTATI

- Esame necroscopico

Ad un primo esame visivo, l'osservazione del piumaggio e della cute ha potuto escludere l'origine traumatica come possibile causa di morte. Sono state infatti escluse ferite da arma da fuoco o traumi da elettrocuzione e/o collisione con eventuali strutture artificiali, come cause di morte, cause già implicitamente escluse in ragione sia del

luogo di ritrovamento degli esemplari (riserva naturale) sia dell'elevato numero di soggetti venuti a morte (circa 78).

All'apertura della cavità celomatica si rilevava una certa quantità di grasso di deposito, uniformemente distribuito, indice di buono stato di nutrizione dei soggetti esaminati, tipico delle specie migratorie.

Al ribaltamento dello sterno la topografia dei visceri toraco-addominali appariva normale ma risultava evidente un imponente quadro congestizio-emorragico generalizzato, che interessava sia gli organi che le sierose, accompagnato da una imponente raccolta intracavitaria di sangue non coagulato.

Le lesioni più significative sono state evidenziate a carico dell'apparato digerente, la cui sierosa presentava, per tutto il suo decorso, un colore decisamente rossastro: le mucose dello stomaco ghiandolare e dell'esofago si presentavano fortemente emorragiche; sulla mucosa del ventriglio, dopo l'asportazione della membrana di coilina, erano presenti petecchie emorragiche; una grave flogosi necrotico-emorragica interessava l'intero intestino, in particolare il tratto duodeno-digiuno, le tonsille ciecali si presentavano anch'esse necrotico-emorragiche.

Anche a livello di altri organi quali trachea, polmoni, milza e fegato si evidenziava un grave quadro di congestione.

La negatività rilevata alla prova docimasica, effettuata su una porzione del parenchima polmonare, ha escluso un evento flogistico di stretta pertinenza dell'organo, confermando il sospetto di infarcimento emorragico consequenziale all'imponente versamento ematico intracavitario.

Il fegato si presentava non modificato nei margini e nella consistenza, ma fortemente congesto; la sezione di taglio lasciava refluire sangue di colore rosso vivo, ma non si osservavano altri segni patologici specifici.

La milza si presentava di forma globosa, aumentata di volume, con capsula tesa e di consistenza diminuita. In sezione di taglio defluiva sangue di color rosso vivo e la polpa rossa non era ben trattenuta, segno quest'ultimo che esclude il semplice infarcimento emorragico dell'organo, indirizzando il sospetto diagnostico verso una splenite congestizio-emorragica, caratteristica di una milza in iniziale stato reattivo. 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.

Il quadro congestizio emorragico generalizzato era completato da una lieve iperemia della mucosa tracheale e da un'iperemia meningea.

- Esami di laboratorio

Esami batteriologici: gli esami hanno dato esito negativo per tutti gli agenti patogeni ricercati. (*Pasteurella multocida*, *Salmonella* e *Clostridium*)

Esami virologici: gli esami hanno dato esito negativo per gli agenti patogeni ricercati (*Orthomyxovirus*, *Paramyxovirus* ed *Herpesvirus*).

Esami istologici: gli esami hanno evidenziato nelle sezioni degli organi e degli apparati esaminati, fenomeni autolitici e di steatonecrosi più o meno diffusi nonché artefatti strettamente correlati al congelamento e alla putrefazione dei campioni. La maggior parte dei campioni presentavano, infatti, avanzate alterazioni cadaveriche, tanto che per due di essi è stato impossibile riconoscere l'organo di provenienza.

In particolare sono stati osservati edema e aree focali di steatonecrosi a livello della sottomucosa dello stomaco ghiandolare; diffusi reperti di autolisi nell'intestino; congestione del parenchima polmonare e presenza nel lume parabranchiale di materiale rosato granulare frammisto a una moderata quantità di globuli rossi di aspetto tondeggianti e rigonfiati; segni di stasi ematica ed emorragie nel parenchima renale con presenza di vacuoli citoplasmatici nell'epitelio tubulare; diffusi reperti di autolisi e di enfisema cadaverico nel parenchima splenico ed epatico.

Esami tossicologici: le indagini di ordine tossicologico, come si può evincere dalla tabella 8, hanno messo in risalto la presenza di residui di alcuni metalli pesanti e di un remoto metabolita del DDT, il p,p'-DDE negli organi esaminati. In particolare:

- a livello epatico sono stati riscontrati: 0.52 mg/Kg di piombo, 0.10 mg/Kg di Cadmio, 0.16 mg/Kg di Cromo;
- a livello del proventricolo o stomaco ghiandolare è stata riscontrata la presenza di un metabolita altamente stabile del DDT, il p,p'-DDE, in concentrazione pari a 12.75 mg/Kg;
- a livello del contenuto gastrico sono stati riscontrati: 3.37 mg/Kg di Piombo, 0.02 mg/Kg di Cadmio, 4.88 mg/Kg di Cromo e il metabolita del DDT (Diclorodifeniltricloroetano), il p,p'-DDE (1,1-dicloro-2,2-bis (p-clorofenil)-etilene), alla dose di 1.27 mg/Kg;
- a livello degli altri organi quali cervello e tessuto adiposo e rene non sono stati riscontrati residui di metalli pesanti o altre sostanze tossiche.

Tabella 8 – Livelli (mg/kg) delle sostanze tossiche ritrovate nei campioni analizzati

<i>Sostanza tossica</i>	<i>Campioni</i>					
	<i>Fegato</i>	<i>Reni</i>	<i>Proventricolo</i>	<i>Contenuto gastrico</i>	<i>Cervello</i>	<i>Tessuto adiposo</i>
<i>Piombo</i>	0.52	-	-	3.37	-	-
<i>Cadmio</i>	0.10	-	-	0.02	-	-
<i>Cromo</i>	0.16	-	-	4.88	-	-
<i>Organoclorurati (OC)</i>	-	-	12.75*	1,27*	-	-
<i>Organofosforici (OP)</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Carbammati (CB)</i>	-	-	-	-	-	-

* p,p'-DDE

6.4 CONSIDERAZIONI

Numerose sono state le ipotesi formulate al fine di spiegare l'improvvisa morte di un così gran numero di uccelli e altrettanto numerosi sono stati gli agenti eziologici ritenuti responsabili del fenomeno.

Nonostante le numerose ricerche e test effettuati presso laboratori specializzati, allo stato attuale, non è ancora nota la reale causa di morte delle 78 gru ritrovate sulle rive del lago di Conza.

Probabilmente l'esito negativo degli esami istopatologici e microbiologici, è legato ad uno stato di avanzata decomposizione delle carcasse, che non ha permesso di condurre accurate analisi di laboratorio o eventualmente identificare lesioni che potevano indirizzare i clinici verso una determinata patologia..

La ricerca di pesticidi e metalli pesanti nei campioni d'organo prelevati, ci ha portato ad escludere gli stessi come causa di morte, dato che la loro concentrazione nel contenuto gastrico e nel fegato rientrava nei valori standard. Fa eccezione il Cromo, la cui concentrazione nel contenuto gastrico (4.88 mg/Kg p.v) può essere considerata indicativa di una contaminazione da Cromo (Eisler, 1986) dell'area in cui gli esemplari sono stati ritrovati, probabilmente legata alla presenza di industrie tessili e galvanotecniche nel circondario

dell'oasi, che utilizzano il metallo ai fini della produzione industriale; i processi industriali di estrazione, trattamento e utilizzazione di minerali contenenti Cr costituiscono infatti la principale causa di dispersione del metallo nella biosfera e nelle acque.

Da non sottovalutare però, anche se di difficile interpretazione, il riscontro nel contenuto dello stomaco ghiandolare di un metabolita altamente stabile del DDT, il p,p'-DDE, appartenente alla famiglia degli Organoclorurati (OCs), cui tutti gli uccelli piscivori, sono particolarmente esposti. (Walker, 1990)

Anche se l'assenza del p,p'-DDE nel fegato e nel tessuto adiposo suggerisce che gli uccelli abbiano trascorso la loro vita in un ambiente incontaminato, il riscontro invece dello stesso metabolita nel loro contenuto gastrico, ci fa supporre che la contaminazione riguardasse il luogo in cui le gru sono state ritrovate (zona di Conza, in provincia di Avellino); probabilmente il tossico originario, il DDT, presente nell'ambiente, è stato ingerito dai pesci, metabolizzato a livello epatico e trasformato nel metabolita altamente stabile, il p,p'-DDE; successivamente gli uccelli, ingerendo i pesci contaminati, hanno assunto direttamente il prodotto della biotrasformazione del tossico; ciò ci spiega perché il p,p'-DDE è stato rivenuto soltanto nel loro contenuto gastrico e non negli organi deputati alla sua

biotrasformazione e bioaccumulazione, quali sono il fegato e il tessuto adiposo, rispettivamente.

Seppure i risultati tossicologici mostrano che nessuna delle sostanze ricercate possa essere ritenuta causa di morte degli esemplari, il decorso iperacuto del fenomeno, il decesso contemporaneo di un numero così elevato di uccelli, la negatività degli esami batteriologici e virologici, continuano ad orientare il nostro sospetto diagnostico verso un fenomeno di origine tossicologica, pensando soprattutto a rodenticidi ad attività anticogulate.

Come dimostra il nostro studio, è spesso difficile se non impossibile identificare le cause di morte di animali selvatici, e uno dei principali motivi sembra essere quello di non poter ottenere in tempi reali campioni di organi o tessuti in condizioni tali da permettere lo svolgimento di accurate indagini, ricerche ed esami.

Da qui la necessità di sottoporre il soggetto ad esame necroscopico nel più breve lasso di tempo possibile dall'exitus dato che spesso ci si trova di fronte ad un caso clinico la cui anamnesi è muta, e le sole indagini complementari possono consentire al clinico di formulare una diagnosi attendibile.

Il nostro lavoro vuole sottolineare come i cambiamenti climatici, la scomparsa delle foreste, l'agricoltura intensiva e soprattutto

l'esposizione a pesticidi o altre sostanze chimiche rappresenti un costante rischio ecologico per gli uccelli selvatici di tutto il mondo.

Questo caso è uno dei tanti esempi allarmanti di disastro ecologico, purtroppo sempre più frequenti sul nostro pianeta, importante sia dal punto di vista della conservazione delle specie, essendo la Gru oggi una specie protetta e a rischio di estinzione, sia in considerazione del fatto che la fauna selvatica potrebbe essere considerata come bio-indicatore della salubrità e integrità dell'ecosistema in cui viviamo.

MORTALITÀ NELL'AVIFAUNA SELVATICA:

***78 Gru cenerine (Grus grus) morte presso il
lago di Conza della Campania(AV)***

APPENDICE IV



Rilevazione misure biometriche



Fig 1. a) Valutazione del peso;



Fig 1: c) Determinazione di H+B



Fig 1: e) Misurazione del becco



Fig1: b) Misurazione dell' apertura alare



Fig 1: d) Determinazione della lunghezza;



Fig 1: f) Misurazione della III° remigante

Esame necroscopico

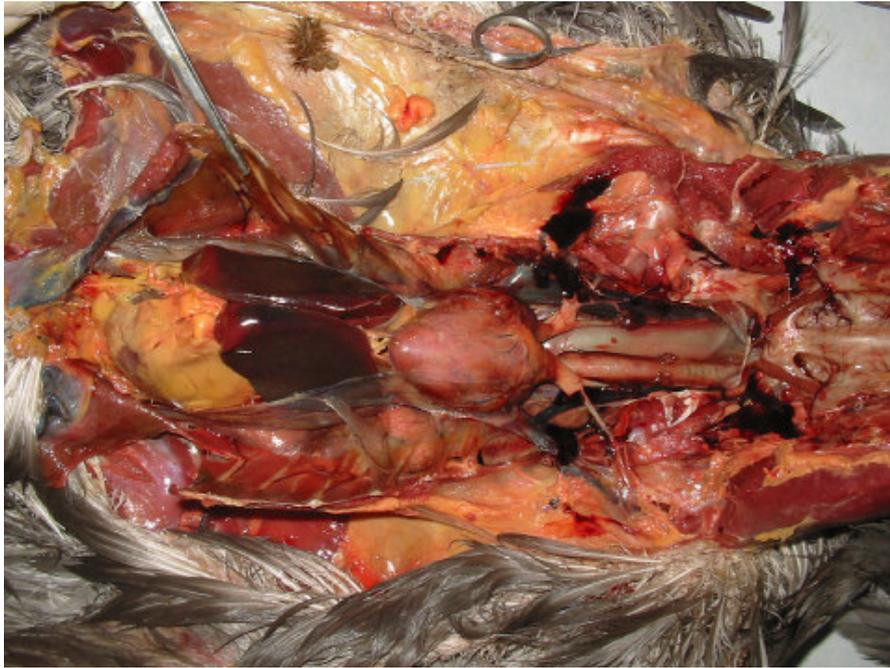


Fig 2: a) Grassi di deposito intracavitari, tipici di specie migratorie



Fig 2: b) Raccolta intracavitaria di sangue non coagulato

Esame necroscopico

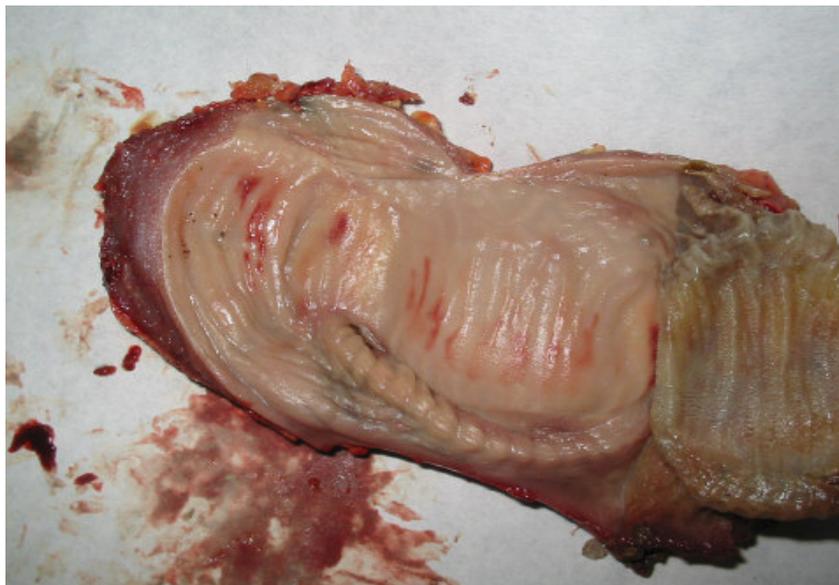
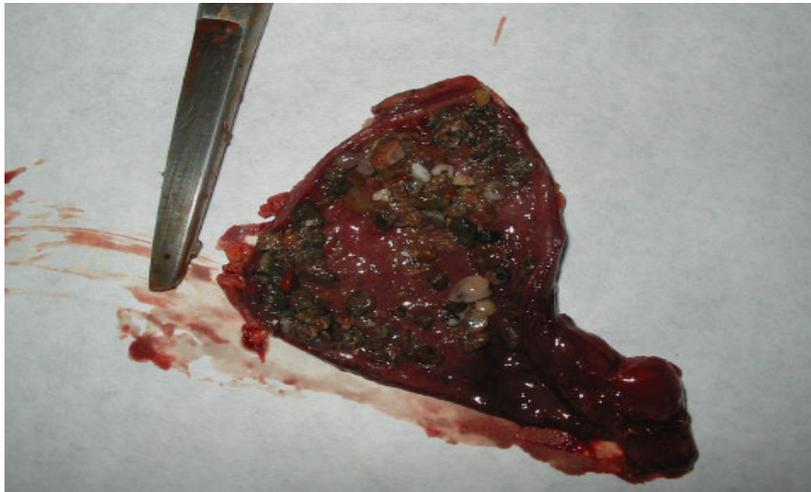


Fig 2: c) Apparato digerente: mucose dello stomaco ghiandolare e dell'esofago fortemente emorragiche; presenza di petecchie sulla mucosa dello stomaco muscolare

Esame necroscopico

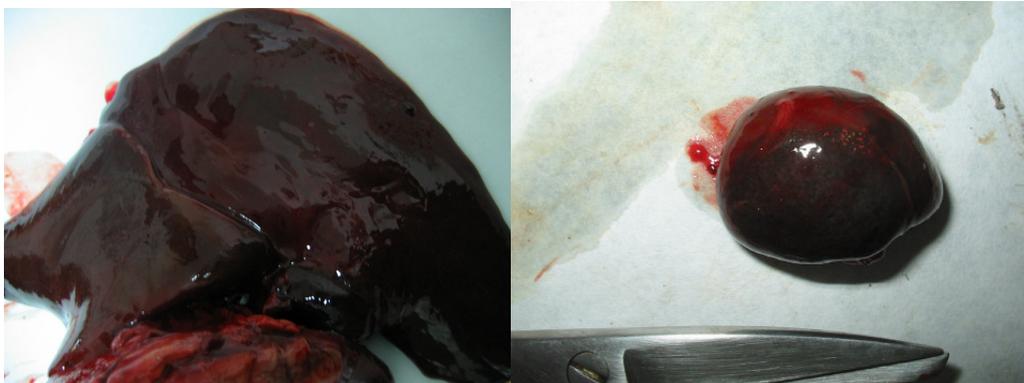
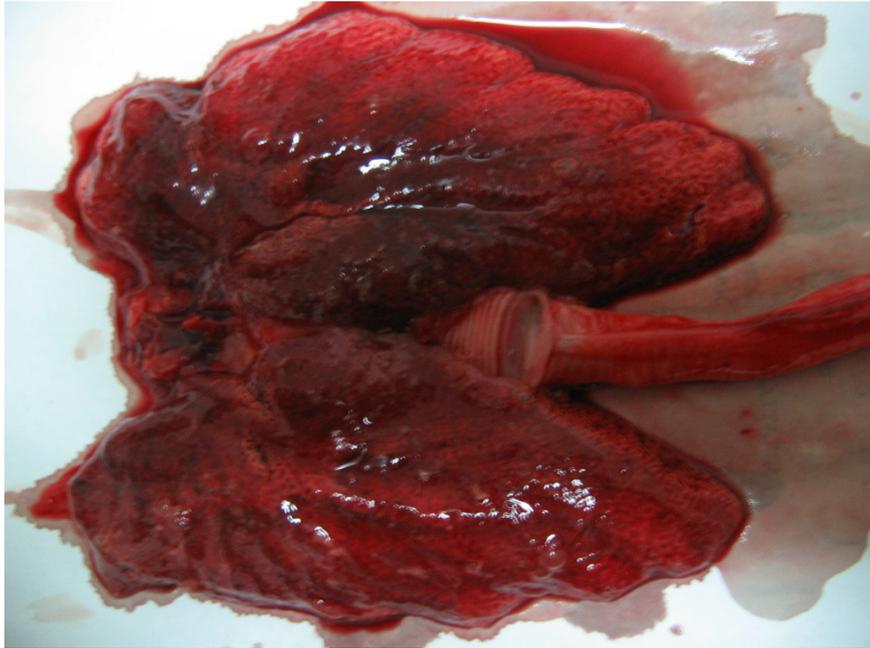


Fig 2: d) Grave quadro di congestione a livello di trachea, polmoni, milza e fegato.

Esame necroscopico

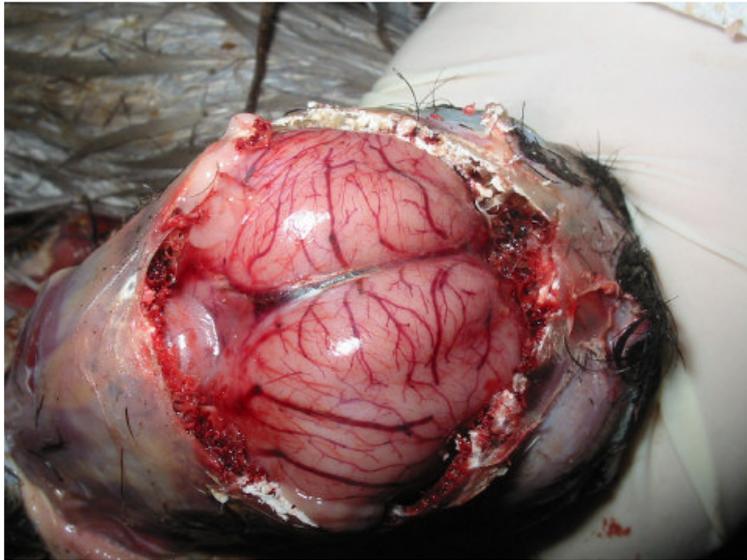


Fig 2: d) Iperemia meningea

Campionamento



Fig 3:a-b) Prelievo sternale del midollo mediante ago da biopsia pediatrico

7. BIBLIOGRAFIA

- AA.VV. (2004) Istituto Superiore Sanità. Rapporto annuale del Sistema di Sorveglianza Enternet Italia, Anno 2004
- AA.VV. (2004) Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on the request from the Commission related to *Campylobacter* in animals and foodstuff. *The EFSA Journal* **177**,1-10
- AA.VV. (2005) European Food Safety Authority. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Antimicrobial Resistance in the European Union in 2004.
- AA.VV. 2002/649/CE "Decisione della Commissione, del 5 agosto 2002, relativa all'effettuazione di indagini sull'influenza aviaria nel pollame e nei volatili selvatici negli Stati membri". Gazzetta ufficiale n. L 213 del 09/08/2002 pag. 0038 - 0042.
- AA.VV. 2004/111/CE "Decisione della Commissione, del 29 gennaio 2004, relativa all'effettuazione nel 2004 di indagini sull'influenza aviaria nel pollame e nei volatili selvatici negli Stati membri". Gazzetta ufficiale n. L 032 del 05/02/2004 pag. 0020 - 0021.

- Abiodun A. (1999) Absence of *Escherichia coli* O157 in a survey of wildlife from Trinidad and Tobago. *J Wildl Dis.* **35**(1):115-20.
- Adak G.K., Meakins S.M., Yip H., Lopman BA., O'Brien S. J. (2005) Disease risk from foods, England and Wales, 1996-2000. *Emerg. Infec. Dis.*, **11**(3),365-372
- Adesiyun AA, Seepersadsingh N, Inder L, Caesar K. (1998) Some bacterial enteropathogens in wildlife and racing pigeons from Trinidad *J. Wildl Dis* **34**(1): 73-80.
- Alexander D.J. (1995) "The epidemiology and control of avian influenza and Newcastle disease". *Journal of Comparative Pathology*, 112, 105-126.
- Alexander D.J. (2000) "A review of avian influenza in different bird species". *Veterinary Microbiology*, 74, 3-13.
- Archibald G. W. and Meine C., (1995). Family Gruidae. *In:*
- Archibald G. W., (1976). The unison call of cranes as a useful taxonomic tool. Cornell University Ed., Ithaca, New York.
- Badger J.L., Stins M.F., Kim K.S. (1999) *Citrobacter freundii* Invades and Replicates in Human Brain Microvascular Endothelial Cells. *Infections and Immunity*, **8**(67),4208-4215

- Baiano, A., G. Matteoli, L. Dipinto, M. Kalbi, S. Troisi, M. Calabria, L.F.Menna, and A. Fioretti. Sindrome Ischemica del gheppio: segnalazione di 9 casi rinvenuti in Campania (Italia). *Large Animal Rev.* 9 (6) : 79-80. 2003.
- Baldo A., (1999). *Wandervogel (Uccelli migratori)*. Esca Ed., Vicenza.
- Becker W. B. (1966) "The isolation and classification of Tern virus: influenza A - Tern South Africa - 1961". *Journal of Hygiene*, 64, 309-320.
- Bengis R.G., Leighton F.A., Fischer J.R., Artois M., Mörner T., Tate C.M. (2004) "The role of wildlife in emerging and re-emerging zoonoses". *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 23 (2), 497-511.
- Berthold P., (2003). *Le migrazioni degli uccelli: una panoramica attuale*. Bollati Boringhieri Ed., Torino.
- Broman T., Palmgren H., Bergstrom S., Sellin M., Waldenstrom J., Danielsson-Tham M.-L., Olsen B. (2002) *Campylobacter jejuni* in black-headed gulls (*Larus ridibundus*): prevalence, genotypes, and influence on *C. jejuni* epidemiology. *J Clin Microbiol.* Dec;40(12):4594-602.

- Butler T. (1998) Yersiniosis and Plague . In: "Zoonoses" Palmer S.R.,Soulsby L.,and Simpson D.I.H. Editors, Oxford University Press, Oxford, pp. 281-293
- Campbell, T. W. Avian hematology. In: Avian Hematology and Cytology. 2nd ed. T. W. Campbell, ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA. Pp 3-19. 1995.
- Campbell, T. W. Common avian blood parasites. In: Avian Hematology and Cytology. 2nd ed. T. W. Campbell, ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA. Pp 30-34. 1995.
- Caprioli A., Conedera G., Lucangeli C. (2005) Escherichia 0157 e altri E. coli enteroemorragici. In: "Trattato sulle Infezioni e Tossinfezioni Alimentari" Rondanelli E.G., Fabbri M., Marone P. (Eds.), Selecta Medica Pavia, pp 477-488.
- Capua I., Marangon S., Selli L., Alexander D.J., Swayne D.E., Dalla Pozza M., Parenti E., Cancellotti F.M. (1999) "Outbreaks of highly pathogenic avian influenza (H5N2) in Italy during October 1997 to January 1998". Avian Pathology, 28, 455-460.
- Capua I., Marangon S. (2000) "The avian influenza epidemic in Italy, 1999-2000: a review". Avian Pathology, 29, 289-294.

- Capua I., Grossele B., Bertoli E., Cordioli P. (2000) "Monitoring for highly pathogenic avian influenza in wild birds in Italy". *Veterinary Record*, 147, 640.
- Capua I., Alexander D.J. (2004) "Avian influenza: recent developments". *Avian Pathology*, 33 (4), 393-404.
- Chuma T., Hashimoto S., Okamoto K. (2000) Detection of thermophilic *Campylobacter* from sparrows by multiplex PCR: the role of sparrows as a source of contamination of broilers with *Campylobacter*. *J Vet Med Sci.* **62**(12):1291-5.
- Cooper, J. E. Miscellaneous emerging diseases . In: *Birds of Prey: health & disease*. 3rd ed. Blackwell Publishing. Pp 193. 2002.
- Cooper, J. E. Parasites. In: *Veterinary Aspects of Captive Birds of Prey*. 2nd ed. J. E. Cooper, ed. The Standfast Press, Gloucestershire, UK. Pp 82-96. 1991.
- Cramp S., (1981). *La conservazione dell'avifauna in Europa: relazione preparata per il servizio dell'ambiente e protezione dei consumatori*. Edagricole Ed., Bologna.
- Craven S.E., Stern N.J., Line E., Bailey S., Cox N.A., Fedorka-Cray P. (2000) Determination of the incidence of *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*, and *Clostridium perfringens* in wild

birds near broiler chicken houses by sampling intestinal droppings. *Avian Dis.* **44**(3):715-20.

- Curry-Lindhal K., (1977). *Gli uccelli attraverso il mare e la terra.* Rizzoli Ed., Milano.
- Delogu, M., E. Catelli, V. Sanguinetti, M. A. De Marco, V. Guberti and S. Covoni. *Sindrome Ischemica del Gheppio (Falco tinnunculus):* descrizione ed ipotesi eziopatogenetica. *Suppl. Ric. Biol. Selvaggina XXIV*:199-209. 1996.
- De Marco M.A., Foni G.E., Campitelli L., Raffini E., Di Trani L., Delogu M., Guberti V., Barigazzi G., Donatelli I. (2003) "Circulation of influenza viruses in wild waterfowl wintering in Italy during the 1993-99 period: evidence of virus shedding and seroconversion in wild ducks". *Avian Diseases*, 47, 861-866.
- Dorst J., (1976). *Le migrazioni degli uccelli.* Editoriale Olimpia, Firenze.
- Eisler R., (1986). Chromium hazards to fish, wildlife and invertebrates: a synoptic review. *Contaminant Hazard Reviews*, Report No. 6.
- [_F:\citrobacter\citrobacter.htm](#)

- Food Safety Management System (2002) Cost, Benefits and Alternatives. Commonwealth Department of Health and Aging 2002
- Forbes, N.A., and N.H. Harcourt-Brown. Wing tip oedema and dry gangrene of raptors. *Vet. Rec.* Jun 15. 128 (24): 575. 1991.
- Fouchier R.A., Munster V., Wallensten A., Bestebroer T.M., Herfst S., Smith D., Rimmelzwaan G.F., Olsen B., Osterhaus A.D. (2005) "Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls". *Journal of Virology*, 79 (5), 2814-2822.
- Fu Z., Rogelj S., Kieft T.L. (2005) Rapid detection of *Escherichia coli* O157:H7 by immunomagnetic separation and real-time PCR. *J. Food Microb.* **99**: 47-57.
- Gannon V.P.J., Rashed M., King R.K., Golsteyn Thomas E.J. (1993) Detection and characterization of the *eae* gene of Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* using polymerase chain reaction. *J. Clin. Microb.* **31** (5): 1268-1274.
- Gichuki N., (1995). Grey Crowned Crane biology. *In* Proceedings of the African Crane and Wetland Training Workshop. International Crane Foundation, R. D. Bielfuss Editor, Baraboo, Wis.

- Griffin D.D., (1977). Le migrazioni degli uccelli: basi fisiologiche e biologiche del senso di orientamento. Zanichelli Ed., Bologna.
- Hall G.K., Meakins S.M., Becjer N., Gregory J.E., Unicomb L., Millard G., Stafford R., Lalor K. (2005) Estimating foodborne gastroenteritis, Australia. *Emerg Infect Dis.* **11**(8),1257-1264
- Handbook of the birds of the world. J. del Hoyo and A. Elliot Editors, Vol. 2, Lynx Edicions, Barcellona.
- <http://en.wikipedia.org/wiki/Common.Crane>
- <http://www.primissima.it/primissima/scuola/index>.
- Hubalek Z. (2004) An annotated checklist of pathogenic microorganism associated with migratory birds J. Wildl Dis. **40**(4) :639-59.
- Hyde D. O., (1957). Crane notes. *Blue Jay*, 15:19-21.
- Ingold J. L., (1984). Systematics and evolution of the cranes. Miami University Ed., Oxford, Ohio.
- Kaneuchi C., Shibata M., Kawasaki T., Karu T., Kanzaki M., Maruyama T. (1989) Occurrence of *Yersinia* spp. in migratory birds, duck, seagulls and swallows in Japan Jpn. J. Vet. Sci. 51, 805-808.

- Kaneuchi C., Shibata M., Kawasaki T., Karu T., Kanzaki M., Maruyama T. (1989) Occurrence of *Yersinia* spp. in migratory birds, duck, seagulls and swallows in Japan Jpn. J. Vet. Sci. **51**, 805-808.
- Kapperud G., Olsvik O. (1982) Isolation of enterotoxigen *Yersinia enterocolitica* from birds in Norway J. Wildl. Dis. **18**,247-248.
- Kapperud G., Rosef O. (1983) Avian wildlife reservoir of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*, *Yersinia* spp., and *Salmonella* spp. in Norway. Appl Environ Microbiol. **45**(2):375-80.
- Korkolainen V., (1990). La gru cenerina. Produzioni artistiche milanesi Ed., Milano.
- Licheri D., Spina F., (2002). Biodiversità dell'avifauna italiana: variabilità morfologica nei Passeriformi (parte II). Biologia e Conservazione della Fauna, vol.112, Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica "Alessandro Ghigi".
- Lucisano Pica A. (1994). Cadmio. *In*: Tossicologia Veterinaria. Beretta C. Ed., Casa Editrice Ambrosiana, Milano.

- Luechtefeld A.W., Blaser M.J., Reller L. B., Wang W. (1980) Isolation of *Campylobacter fetus* subsp.*jejuni* from Migratory Waterfowl. *Journal of Clinical Microbiology*,**12**(3),406-408
- Luzzi I., Pezzotti G. (2005) *Campylobacter spp.* In: “Trattato sulle Infezioni e Tossinfezioni Alimentari“, Rondanelli E. G. , Fabbri M., Marone P. Editori, Selecta Medica Pavia, pp. 303-318
- Lyon, D.G., and R. Wilkinson. Wing tip oedema and dry gangrene in birds. *Vet. Rec.* Jun 29. 128 (26):618. 1991.
- Mead P.S., Slutsker L., Dietz V, MacGaig L.F.,Bresee J.S., Shapiro C.,Griffin P.M., Tauxe R.V (1999) Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis.* **5**(5), 607-625
- Peters J. C., (1934). Check-list of the birds of the world. Vol. II. Harvard University Press, Cambridge.
- Preo P., (1992). La danza delle gru. Piovan Ed., Abano Terme.
- Reche M.P., Jimenez P.A., Alvarez F., Garcia De Los Rios J.E., Rojas A.M., De Pedro P. (2003) Incidence of Salmonellae in Captive and Wild Free-living Raptorial Birds. *J. Vet. Med.* **50**, 42-44.
- Ricci A. (2005) Aspetti microbiologici ed Epidemiologici delle Salmonellosi in medicina veterinaria. In: “Trattato sulle

Infezioni e Tossinfezioni Alimentari “, Rondanelli E. G., Fabbri M., Marone P. (Eds.), Selecta Medica Pavia, pp.283-294

- Rondanelli M., Bonisio A., Giacosa A. (2005) Infezioni da Salmonelle in Patologia umana. In: “Trattato sulle Infezioni e Tossinfezioni Alimentari“, Rondanelli E. G., Fabbri M., Marone P. (Eds.), Selecta Medica Pavia, pp. 253-278
- Sanfelice E., (1891). Gru migranti: (primo stuolo). Libreria Fratelli Treves, Pietro Virano Ed., Bologna.
- Schlundt J., Toyofuku H., Jansen J., Herbst S.A. (2004) Emerging food-borne zoonoses. *Rev. sci. tech. Off. int Epiz.* **23**(2), 513-533
- Schmidt-Koenig K., (1985). L'enigma delle migrazioni degli uccelli. Rusconi Ed., Milano.
- Shayegani M., Stone W.B., Deforge I., Root T., Parson L.L., Maupin P. (1986) *Yersinia enterocolitica* and related species isolates from wildlife in New York State *Appl. Environ. Microbiol.* **52**, 420-424.
- Slingenbergh J., Gilbert M., De Balogh K., Wint W. (2004) Ecological sources of zoonotic diseases . *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.* **23**(2),467-484

- Spina F., Cardinale M., Macchio S., (2001). Biodiversità dell'avifauna italiana: variabilità morfologica nei Passeriformi (parte I). *Biologia e Conservazione della Fauna*, 107: 1-80.
- Trevanian (1998). *Il ritorno delle gru*. Bompiani Ed., Milano.
- Trott S., (1999). *Quando la gru spiega le ali: storia di una bigama*. Corbaccio Ed., Milano.
- Vlahovic K., Matica B., Bata I., Pavlak M., Pavicic Z., Popovic M., Nejedli S., Dovic A. (2004) *Campylobacter, salmonella and clamymydia in free-living birds of Croatia*. *Eur J.Wild Res.* **50**,127-132
- Waldenstrom J., Broman T., Carlsson I., Hasselquist D., Achterberg R.P., Wagenaar J.A., Olsen B. (2002) *Prevalence of Campylobacter jejuni, Campylobacter lari, and Campylobacter coli in different ecological guilds and taxa of migrating birds*. *Appl Environ Microbiol.* **68**(12):5911-7.
- Walker C. H., (1990). *Persistent pollutants in fish-eating birds: bioaccumulation, metabolism and effects*. *Aquatic Toxicology*, 17: 293-324.
- Walkinshaw L. H., (1964). *The African Crowned Cranes*. *Wilson Bulletin*, 76: 355-377.

- Wernery, R., U. Wernery, J. Kinne and J. Samour. Hematology and blood biochemistry. In: Colour Atlas of Falcon Medicine. 1st ed. R. Wernery, U. Wernery, J. Kinne and J. Samour, ed. Hannover, Schlütersche, Germany. Pp 12-42. 2004.
- Wolfson A., (1962). Bird Migration. Voice of America Ed., Washington.
- World Health Organization (WHO) (2001) Surveillance Programme for Control of Foodborne Infectious and Intoxication in Europe. 8° Report 1999-2000.
- www.antropozoonosi.it/Malattie/Tossinfezioni/tossinfezioni.php
- www.epicentro.iss.it/problemi/tossinfezioni/tossinfezioni.asp
- www.hivpositive.com/f-Nutrition/Foodborne/Foodill.html
- www.hpa.org.uk
- www.popso.it/selettore.php