

COMUNICAZIONE 6

INDAGINE SULLA PRESENZA DI ORTHO- E PARAMYXOVIRUS AVIARI IN UCCELLI SELVATICI DELLA CAMPANIA

A. PICCIRILLO¹, A. BAIANO², A. MORENO MARTIN¹, M. CALABRIA², M. SENSALÉ², S. TROISI³,
A. FIORETTI², P. CORDIOLI¹

¹Reparto di Virologia e Sierologia Specializzata - IZS Lombardia ed Emilia Romagna - Sezione di Brescia

²Dip. Patologia e Sanità Animale, Univ. Di Napoli Federico II

³Osserv. Epidemiologico Fauna Selvatica, Vallo della Lucania (SA)

Parole chiave: *Orthomyxovirus*, *Paramyxovirus*, passeriformi, epidemiologia

Monitoring for Ortho- and Paramyxovirus in wild birds in Campania Region (Italy)

Key words: *Orthomyxovirus*, *Paramyxovirus*, passerines, epidemiology

Summary: 317 cloacal swabs were collected from wild birds (305 from *Passeriformes*, 1 from *Strigiformes*, 1 from *Columbiformes*, 2 from *Piciformes*, 8 from *Galliformes*) in order to detect avian influenza A viruses and Paramyxoviruses. The survey was carried out in a protected area in Southern Italy (Campania region) between November 2000 and April 2001. Virus isolation was performed according to EU Directive 92/40/EEC and the detection of haemagglutinating agents using HA and sandwich ELISA tests. All the swabs were negative. The results of our investigation represent a further evidence for the minor role played by passerines in spreading avian influenza viruses.

Correspondence: Ana Moreno Martin - Dipartimento Diagnostica Specializzata, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna - Via A. Bianchi, 9 - 25124 Brescia. E-mail: amoreno@bs.izs.it

Introduzione

Da tempo gli uccelli selvatici sono considerati importanti serbatoi di virus influenzali di tipo A e Paramyxovirus aviari, agenti eziologici di due devastanti malattie del pollame domestico (1, 5). In particolare, si ritiene che gli uccelli acquatici, appartenenti soprattutto all'ordine degli *Anseriformes*, rivestano un ruolo centrale nell'ecologia dei virus influenzali e nella loro diffusione e mantenimento in natura, mentre molto raro è l'isolamento di questi virus dai *Passeriformi* (10, 11).

L'ordine dei *Passeriformes* rappresenta uno dei gruppi ornitici più eterogenei. Conta, infatti, oltre 5.000 specie con diverse abitudini alimentari (insettivori, granivori e carnivori) e comportamentali (stanziali, migratori a lungo, medio e corto raggio) (7).

Da un punto di vista epidemiologico, notevole interesse viene rivolto a quelle specie migratorie che, contraendo un più o meno stretto rapporto con ambienti antropizzati, compresi gli allevamenti intensivi di pollame domestico, possono svolgere un ruolo importante nella diffusione e nel mantenimento in natura dei virus (2). Gli spostamenti effettuati da queste specie possono ricoprire anche vasti territori, che si estendono dalla zona Sub-Sahariana fino al Nord-Europa. In particolare, l'Italia è scelta da molte specie come zona di svernamento e nidificazione e come ponte per i Paesi nord europei (8).

La presente indagine è stata effettuata con lo scopo di apportare nuovi dati riguardo al coinvolgimento epidemiologico degli uccelli selvatici, ed in particolare dei *Passeriformi*, nella diffusione dei virus influenzali e dei *Paramyxovirus* aviari.

Materiali e metodi

Campionamenti: i campionamenti sono stati eseguiti in uccelli selvatici catturati a scopo di inanellamento in un'area della provincia di Salerno all'interno del "Parco Nazionale del Cilento e Vallo di Diano". La raccolta dei campioni è stata effettuata nel periodo compreso fra novembre 2000 ed aprile 2001.

Dopo la cattura ed il rilievo dei dati zoologici (identificazione della specie, età, peso, etc.), si procedeva con l'esecuzione di un tampone cloacale

per la raccolta delle feci. I tamponi venivano posti in soluzione salina tampone fosfato (PBS) contenente antibiotici (penicillina e streptomina) in sospensione al 10-20% e così trasportati in laboratorio e conservati a -20°C.

Complessivamente sono stati raccolti 317 tamponi da esemplari appartenenti a 38 specie differenti. Di queste, circa il 90% apparteneva all'ordine dei *Passeriformi*, mentre le rimanenti, rappresentate ognuna da pochi esemplari, erano dei seguenti ordini: *Strigiformes*, *Columbiformes*, *Galliformes* e *Piciformes*. Nella tabella 1 è riportato il numero totale dei campioni eseguiti per specie.

Isolamento virale: dopo centrifugazione (3.000 rpm x 15') e filtrazione (0,45 µm.), i campioni venivano inoculati, per via allantoidea, in uova embrionate di pollo SPF di 9-11 giorni d'età. Dopo 5 giorni di incubazione a 37°C, le uova venivano raffreddate a 4°C ed il liquido allantoideo raccolto. Quest'ultimo veniva sottoposto al test di emoagglutinazione, per rilevare l'eventuale presenza di agenti emoagglutinanti, e ad un test ELISA sandwich con anticorpo monoclonale (Hb65) diretto nei confronti della nucleoproteina A dei virus influenzali (9). Si procedeva poi con un altro passaggio dei campioni risultati negativi.

Risultati

Tutti i campioni esaminati hanno dato esito negativo sia per gli *Ortho-* sia per i *Paramyxovirus* aviari.

Discussione

I risultati ottenuti nella presente indagine non si discostano molto da quanto già riportato da altri Autori. Nel nostro Paese, infatti, molto scarsi sono stati gli isolamenti di virus influenzali dai *Passeriformi* selvatici (3, 6).

Seppur negativi, però, questi risultati non sono da sottovalutare, anzi rappresentano ulteriori dati utili alla comprensione del coinvolgimento dei *Passeriformi* selvatici nella diffusione dei virus influenzali, confermando così il ruolo marginale da essi svolto. In particolare, ciò vale soprattutto per le specie dai noi maggiormente campionate, quali pettirosso, capinera, etc. Per le altre specie esaminate, invece, la

ristrettezza numerica del campione non consente di trarre alcuna considerazione in merito.

Per quanto riguarda i Paramyxovirus, nonostante siano riportati in letteratura alcuni isolamenti dai Passeriformi (4), sembra comunque che la presenza di questi virus sia piuttosto rara, come viene evidenziato anche nella presente indagine.

Da un punto di vista epidemiologico, i dati presentati sembrano essere molto confortanti soprattutto se si considera che, nell'ambito dell'ordine dei Passeriformi, vi sono specie che in particolari condizioni (allevamenti rurali all'aperto, inadeguate reti di protezione anti-passero dei capannoni, etc.), potrebbero avere contatti con i volatili domestici e pertanto rappresentare una fonte di introduzione di virus in queste specie.

Per concludere, riteniamo che il ruolo dei Passeriformi nella diffusione e mantenimento in natura di virus aviari, ed in particolar modo dei virus influenzali rimanga, comunque, un punto ancora da approfondire e pertanto sarebbe auspicabile che esso venga presto chiarito attraverso un'attività di ricerca più costante e su più ampia scala. Infatti, anche se nel nostro Paese e nell'Unione Europea, vengono attuati programmi di sorveglianza epidemiologica riguardanti la presenza sia di virus influenzali che di altri virus, sembra invece mancare un sufficiente flusso informativo tra essi. Ciò sarebbe di notevole importanza al fine di meglio comprendere l'ecologia ed epidemiologia dell'influenza aviare e di altre infezioni virali negli uccelli selvatici.

Ringraziamenti

Gli Autori desiderano ringraziare la Sig.ra F. Adella per la preziosa assistenza tecnica offerta.

Bibliografia

- Alexander D.J. (1997) "Newcastle disease and other Paramyxoviruses" in Calnek B.W., et al., (eds.), "Diseases of Poultry" 10th ed., London, Mosby-Wolfe.
- Alexander D.J. (2000) "A review of avian influenza in different bird species". Vet. Microbiol., 74, 3-13.
- Cervio G., Luini M., Nardelli L., Schild G.C. (1981) "Isolamento di un virus dell'influenza A nella rondine (*Hirundo rustica*)". Atti Soc. It. Sci. Vet., 35, 733-734.
- De Marco M.A., Foni E., Donatelli I., Castrucci M.R., Barigazzi G., Guberti V., Delogu M., Massi A. (1997) "Ricerca di virus influenzali aviari in passeriformi catturati nel Parco Naturale di Migliarino - San Rossore - Massaciuccoli (PI)". Sel. Vet., 8-9, 805-809.
- Easterday B.C., Hinshaw V.S., Halvorson D.A. (1997) "Influenza" in Calnek B.W., et al., (eds.), "Diseases of Poultry" 10th ed., London, Mosby-Wolfe.
- Fioretti A., Papparella V., Menna L.F., Scebbia S., Milone M. (1988) "Primi risultati sull'attività dell'osservatorio epidemiologico contro l'influenza aviare presso il Centro Sperimentale Avicunicolo di Varcaturò". Clin. Vet., 111 (1-2), 73-78.
- Fratelli F. (2000) "Uccelli Passeriformi" Calderini Edagricole, Bologna.

- Jonsson L. (1996) "Birds in Europe" Christopher Helm, London.
- Siebinga J.T., de Boer G.F. (1988) "Influenza A viral nucleoprotein detection in isolates from human and various animal species". Arch. Virol., 100, 75-87.
- Stalknecht D.E., Shane S.M. (1988) "Host range of avian influenza virus in free-living birds". Vet. Res. Commun., 12, 125-141.
- Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T., Chambers T.M., Kawaoka Y. (1992) "Evolution and ecology of influenza A viruses". Microbiol. Rev., 56, 152-179.

Tabella 1. Numero di campioni eseguiti per specie
Table 1. Number of cloacal swabs per species

Specie	N° Tamponi
Pettiroso (<i>Erithacus rubecula</i>)	93
Capinera (<i>Sylvia atricapilla</i>)	55
Merlo (<i>Turdus merula</i>)	28
Cinciallegra (<i>Parus major</i>)	17
Passera d'Italia (<i>Passer d. italiae</i>)	14
Tordo bottaccio (<i>Turdus philomenos</i>)	13
Occhiocotto (<i>Sylvia melanocephala</i>)	13
Verzellino (<i>Serinus serinus</i>)	8
Quaglia (<i>Coturnix coturnix</i>)	8
Lui piccolo (<i>Phylloscopus collybita</i>)	7
Cinciarella (<i>Parus caeruleus</i>)	6
Passera scopaiola (<i>Prunella modularis</i>)	4
Fringuello (<i>Fringilla coelebs</i>)	4
Sterpazzola (<i>Sylvia communis</i>)	4
Cardellino (<i>Carduelis carduelis</i>)	3
Verdone (<i>Carduelis chloris</i>)	3
Passera mattugia (<i>Passer montanus</i>)	3
Codibugnolo (<i>Aegithalos caudatus</i>)	3
Codirosso spazzacamino (<i>Phoenicurus ochruros</i>)	3
Usignolo di fiume (<i>Cettia cetti</i>)	3
Scricciolo (<i>Troglodytes troglodytes</i>)	2
Sterpazzolina (<i>Sylvia cantillans</i>)	2
Zigolo nero (<i>Emberiza cirius</i>)	2
Passero solitario (<i>Monticola solitarius</i>)	2
Beccafico (<i>Sylvia borin</i>)	2
Torricollo (<i>Jynx torquilla</i>)	2
Pigliamosche (<i>Muscicapa striata</i>)	2
Rondine (<i>Hirundo rustica</i>)	1
Balia nera (<i>Ficedula hypoleuca</i>)	1
Gazza (<i>Pica pica</i>)	1
Civetta (<i>Athene noctua</i>)	1
Tortora (<i>Streptopelia turtur</i>)	1
Tordela (<i>Turdus viscivorus</i>)	1
Picchio muratore (<i>Sitta europaea</i>)	1
Forapaglie (<i>Ocrocephalus schoenobaenus</i>)	1
Usignolo (<i>Luscinia megarhynchos</i>)	1
Lui verde (<i>Phylloscopus sibilatrix</i>)	1
Ghiandaia (<i>Garrulus glandarius</i>)	1
Totale tamponi	317