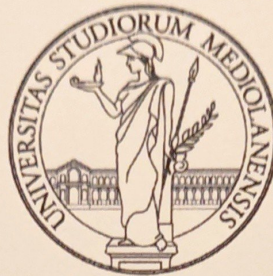


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

Corso di Laurea in Medicina Veterinaria

Dipartimento di Scienze Veterinarie e Sanità Pubblica



**SOPRAVVIVENZA DEI GIOVANI DI CAMOSCIO (*Rupicapra r. rupicapra*)
NEL PARCO NATURALE ALPE VEGLIA-ALPE DEVERO:
VALUTAZIONE DELL'IMPATTO DEI PROTOZOI INTESTINALI**

Relatore: Prof. Paolo LANFRANCHI

Correlatore: Dott. Roberto VIGANÒ

Tesi di Laurea di:

Tiziana TROGU

Matr. N. 646234

Anno Accademico 2011/2012

- Sommario -

| | |
|--|---------------|
| - INTRODUZIONE - | - 1 - |
| SCOPO DELLA TESI | - 5 - |
| - MATERIALI E METODI - | - 6 - |
| AREA DI STUDIO | - 6 - |
| <i>Morfologia e vegetazione dell'habitat</i> | - 7 - |
| <i>Patrimonio faunistico</i> | - 7 - |
| RACCOLTA DATI | - 11 - |
| <i>Censimenti popolazione</i> | - 11 - |
| <i>Raccolta dati meteorologici</i> | - 12 - |
| <i>Raccolta campioni fecali</i> | - 14 - |
| ANALISI DI LABORATORIO | - 16 - |
| <i>Analisi copromicroscopiche</i> | - 16 - |
| <i>Analisi immunoenzimatiche</i> | - 17 - |
| - RISULTATI - | - 19 - |
| <i>Analisi dati di censimento</i> | - 19 - |
| <i>Analisi copromicroscopiche</i> | - 25 - |
| <i>Analisi immunoenzimatiche</i> | - 30 - |
| - DISCUSSIONE - | - 32 - |
| - CONCLUSIONI - | - 37 - |
| - BIBLIOGRAFIA - | - 38 - |
| - ALLEGATI - | - 1 - |

- Introduzione -

La salvaguardia del patrimonio faunistico ha assunto negli ultimi anni un ruolo sempre maggiore nella nostra società, in cui concetti come biodiversità, perdita di habitat, ecosistemi, pressione antropica, suscitano un crescente interesse.

In questo ambito un'oculata gestione sanitaria riveste un'importanza pregnante, soprattutto considerando che le popolazioni a vita libera e il loro benessere entrano a far parte di un'intricata rete di relazioni che coinvolge tanto l'ambiente quanto l'uomo. La sanità animale si riflette infatti nella capacità di un ecosistema di adattarsi a quelle variabili biotiche o abiotiche che possono alterarne l'equilibrio (Nielsen, 1992).

In questo senso l'attenzione per il monitoraggio sanitario della fauna selvatica si sviluppa principalmente in un'ottica di sanità pubblica, a partire dai rischi zoonosici legati alle popolazioni a vita libera (Jones *et al*, 2008). Peraltro vanno considerate le interazioni tra popolazioni a vita libera e quelle zootecniche per prevenire la trasmissione di agenti patogeni da una realtà all'altra, con implicazioni quindi anche di ordine economico. Non ultimo, da non sottovalutare l'aspetto strettamente faunistico, alla luce anche del fatto che, in una realtà fortemente antropizzata, le popolazioni a vita libera assumono per la nostra società una crescente valenza educativa, ambientale e sociale, una risorsa quindi da proteggere e valorizzare. In quest'ottica lo studio delle dinamiche di popolazione, regolate fondamentalmente dal rapporto natalità/mortalità e quindi da tutti quei molteplici e spesso coevi fattori influenzanti la sopravvivenza e il

successo riproduttivo degli individui oggetto di studio, rappresenta un momento basilare.

Le diverse variabili che entrano in gioco nel modulare la dinamica di popolazione per semplicità possono essere distinte rispettivamente in intrinseche ed estrinseche all'animale. Tra quest'ultime va ricordato innanzitutto il ruolo giocato dalle condizioni climatiche, che agiscono sull'ospite sia direttamente (es. inverni rigidi con precipitazioni nevose abbondanti), sia indirettamente (es. qualità del pascolo, sviluppo e sopravvivenza di micro e macro-parassiti). Inoltre la densità di popolazione più o meno elevata influisce notevolmente, a diversi livelli, sull'andamento demografico potendo condizionare da un lato la disponibilità di risorse alimentari e dall'altro la circolazione di agenti patogeni.

Altro elemento che non può essere assolutamente sottovalutato è il disturbo antropico. Focalizzando l'attenzione sulla realtà alpina, se la drastica contrazione delle attività agro-zootecniche ha comportato un generalizzato abbandono della montagna, per contro si assiste a una riscoperta di tali ambienti in un'ottica prettamente turistica. Più in generale le attività umane, che spaziano dalla costruzione di infrastrutture alla tradizionale attività venatoria, oltre a un'imponente modificazione territoriale, possono causare negli animali stati di stress con modificazioni dell'equilibrio endocrino e compromissione dello stato di salute.

Da prendere in considerazione anche la presenza di predatori che, esercitando un'azione di tipo selettivo sugli individui deboli o meno abili, come quelli giovani, possono di fatto ridurre gli effettivi all'interno della popolazione.

Tra le variabili intrinseche va sottolineato che in generale è la popolazione giovanile quella soggetta ad una maggiore mortalità. Ad esempio per il camoscio alpino (*Rupicapra rupicapra rupicapra*), specie oggetto d'attenzione della presente tesi, sono riportati tassi di mortalità fino al 50% nei capretti rispetto al

5-10% degli adulti (Mustoni *et al*, 2002). Questo potrebbe essere dovuto a problematiche che insorgono nelle femmine prima o durante la gravidanza (Pioz *et al*, 2008), ovvero che coinvolgono direttamente i piccoli. È ormai consolidato che il successo riproduttivo sia influenzato da numerose variabili legate all'animale (età, periodo di nascita, costituzione), ma è soprattutto lo stato di salute che permette alla femmina di portare a termine la gestazione e assicurare la sopravvivenza post-natale dei nuovi nati. A tale riguardo è stato dimostrato come alcuni agenti patogeni in grado di agire sulla buona riuscita della gravidanza possano essere trasmessi dai ruminati domestici a quelli selvatici. Sempre nel camoscio alpino, ad esempio, sono stati riscontrati *Salmonella abortus ovis*, *Clamydophila abortus* e *Coxiella burnetii* (Pioz *et al*, 2008), in minor misura *Brucella abortus* (Ferroglia *et al*, 2003). La presenza di tali malattie incide marcatamente sul successo riproduttivo (Pioz *et al*, 2004), peraltro forme di aborto sono state documentate nei ruminanti selvatici soprattutto a causa della presenza di *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* (Ortega-Mora *et al*, 2007).

In uno studio condotto su *R. pyrenaica pyrenaica* è stato dimostrato che la diffusione di *Pestivirus* in una popolazione può causare disturbi a livello riproduttivo inducendo natimortalità o portando alla nascita di soggetti persistentemente infetti che diventano serbatoi dell'infezione per gli individui sani (Pioz *et al*, 2007). Se tale problematica riguarda soprattutto la sfera della fertilità, un ruolo maggiormente predominante potrebbe invece essere svolto dal virus respiratorio sinciziale (BRSV), in grado di colpire tutte le classi d'età provocando gravi focolai di polmonite e un'elevata mortalità (Citterio *et al*, 2003). Considerando le problematiche che riguardano direttamente i piccoli, il quadro si presenta ancora più complesso. La sopravvivenza dei nuovi nati è fortemente influenzata dal periodo di nascita in rapporto alla possibilità di accumulare nel corso dell'estate le necessarie risorse per superare il difficile periodo invernale. È

importante quindi che il pascolo sia di buona qualità in modo che l'alimentazione, sia latte sia a base foraggera, abbia un elevato tenore proteico. Inoltre uno stato nutrizionale non ottimale può compromettere il loro stato immunitario, facilitando la circolazione di agenti patogeni che nei soggetti defedati possono indurre un certo tasso di mortalità (Dematteis *et al*, 2010).

Nelle condizioni descritte sopra è plausibile che anche blande infezioni possano incidere sulla sopravvivenza degli individui più giovani. Negli ovi-caprini domestici ad esempio è stata registrata un'ampia diffusione di *Cryptosporidium* e *Giardia*, protozoi normalmente presenti nei soggetti adulti che però possono compromettere gravemente lo stato di salute di quelli immunodepressi o degli animali più giovani (Manfredi *et al*, 2010).

Nel nostro studio l'attenzione è focalizzata su questa classe di parassiti come possibile causa di mortalità negli ungulati selvatici. In effetti, nonostante siano infezioni più studiate in ambito zootecnico, indagini in Norvegia (Hamnes *et al*, 2006) e Spagna (Castro-Hermida *et al*, 2011), hanno appurato diversi casi di giardiasi (*G. duodenalis*) e di criptosporidiosi (*C. parvum*) nelle popolazioni di ruminanti selvatici, in particolare renna, alce e capriolo, con una maggiore prevalenza nei soggetti più giovani (Robertson *et al*, 2007).

In tali ricerche *Giardia* è risultata essere più diffusa rispetto a *Cryptosporidium*, verosimilmente per il periodo più lungo in cui vengono eliminate le sue oocisti (30 settimane vs 1-2 settimane), almeno per quanto noto nelle specie domestiche (Hamnes *et al*, 2006).

La complessità del quadro epidemiologico in ambito di popolazioni a vita libera evidenzia l'importanza di monitorarne lo stato sanitario, con una valenza in ambito di comunità scientifica quale momento strategico della gestione faunistica che peraltro, nell'auspicata ottica di salute ambientale, si inserisce a pieno titolo nell'ambito del concetto "One health" (Gibbs *et al*, 2009).

Scopo della tesi

La serie storica dei dati di censimento sulla popolazione di camoscio presente nel Parco Naturale Alpe Veglia-Alpe Devero (Alpi Lepontine), ha evidenziato negli ultimi anni un marcato calo del numero degli yearling rispetto a quello dei capretti censiti l'anno precedente.

Trattandosi di animali a vita libera e non marcati individualmente si è pianificata un'accurata attività di osservazione diretta dei camosci parallelamente alla raccolta di campioni fecali al fine di indagare la presenza di protozoi intestinali all'interno di detta popolazione e valutare l'eventuale correlazione con il tasso di sopravvivenza dei piccoli.

- Materiali e metodi -

Area di studio

Il Parco Naturale Alpe Veglia-Alpe Devero, collocato all'estremo nord del Piemonte, è stato istituito nel 1995 dalla fusione dei due parchi preesistenti Alpe Veglia (1978) e Alpe Devero (1990) (Fig. 1).

Si affaccia sul versante delle Alpi Lepontine Occidentali. Esteso per una superficie di 8.539 ha, ha un'altitudine che varia dai 1600 ai 3552 metri s.l.m. e, dal 1990, i suoi confini sono stati ampliati da una zona di salvaguardia di circa 2.197 ha, come raccordo tra l'area protetta e il territorio non soggetto a tutela.



Figura 1: Confine del Parco Naturale Alpe Veglia-Alpe Devero e della zona di salvaguardia.
(www.parcovegliadevero.it)

Morfologia e vegetazione dell'habitat

L'ambiente è caratterizzato nelle quote più basse da zone umide e torbiere (che testimoniano la presenza di antichi specchi d'acqua di origine glaciale) e da ampie aree pascolive circondate da fitti lariceti. Fino ai 2000 metri s.l.m. il territorio è rappresentato prevalentemente da boschi di Larice (*Larix decidua*), con la presenza di Abeti bianchi (*Abies alba*), Abeti rossi (*Picea abies*) e poche latifoglie appartenenti al genere *Sorbus*. Il tipico sottobosco dei lariceti è costituito da distese di Rododendro (*Rhododéndron ferrugineum*) e Mirtillo nero (*Vaccinium myrtillus*), laddove il terreno è meno esposto al sole e la neve ha la possibilità di perdurare maggiormente proteggendo le gemme dal gelo. Sui versanti più esposti invece prevale il Ginepro (*Juniperus communis*), notevolmente più resistente. Con l'aumentare dell'altitudine, le rigide condizioni climatiche impediscono un normale sviluppo delle specie arboree e la vegetazione si fa sempre più arbustiva e rada, fino a lasciare spazio alle praterie alpine che si spingono fino alle imponenti morene alternate a profonde vallette nivali, contribuendo a rendere il territorio ricco delle più svariate specie erbacee (www.parcovegliadevero.it).

L'abbandono delle attività tradizionali, in particolare dell'alpeggio, avvenuto nel corso dei decenni, ha comportato la trasformazione dell'ambiente montano portando all'aumento delle superfici boscate e a una conseguente riduzione delle aree a pascolo.

Patrimonio faunistico

Le specie presenti all'interno del parco sono numerose, con una ricca biodiversità. Per ciò che concerne l'avifauna autoctona tra i rapaci si osservano: Astore (*Accipiter gentilis*), Sparviere (*Accipiter nisus*), Aquila reale (*Aquila chrysaetos*),

Gipeto (*Gypaetus barbatus*) e Gufo reale (*Bubo bubo*) con altri strigidi. Sono presenti inoltre popolazioni consistenti di Tetraonidi, in particolare Fagiano di monte (*Tetrao tetrix*), oltre a Francolino di monte (*Bonasa bonasia*) e Pernice bianca (*Lagopus mutus*), nonché Coturnice (*Alectoris graeca*), picidi, paridi e corvidi.

Tra i mammiferi, oltre agli ungulati, i più frequentemente osservabili sono: Marmotta (*Marmota marmota*), Volpe (*Vulpes vulpes*) e Tasso (*Meles meles*).

La qualità ambientale del parco è anche comprovata dalla segnalazione, seppur occasionale, che negli ultimi anni si è avuta rispetto al ritorno dei grandi predatori, quali Lupo (*Canis lupus*) e Lince (*Linx lynx*).

Gli ungulati, oltre al Camoscio, sono rappresentati da Cervo (*Cervus elaphus*) e Capriolo (*Capreolus capreolus*), che occupano prevalentemente le zone boschive con consistenze rispettivamente di 68 capi (dati 2009, Devero) di 247 capi (dati 2008, distretto Antigorio Isorno Formazza), e dallo Stambecco (*Capra ibex*) che, reintrodotta negli anni '90, rappresenta una presenza stabile con un effettivo nell'ordine di 90 capi (dati 2009, Devero).

Rispetto al quadro epidemiologico sono disponibili dati sulle popolazioni di camoscio nelle zone limitrofe al parco. Da questi si rileva la presenza di agenti patogeni in grado di influenzare negativamente la dinamica di popolazione della specie ospite: nel 2008 si è registrata una prevalenza del 10,7% per *Coxiella burnetii* e del 2,6% (Viganò *et al*, 2010) per *Pestivirus* (Viganò, 2009). Per ciò che concerne il Virus Respiratorio Sinciziale (BRSV), la presenza di tale patogeno è stata indagata e accertata da precedenti studi effettuati all'interno del comprensorio di caccia VCO2, nella provincia di Verbano Cusio Ossola (Viganò, 2009) con prevalenze del 77% nel 2008.

In accordo con il Personale del parco, nell'area in cui era stato registrato il calo di yearling sono state individuate cinque zone campione (Tab. 1; Fig. 2 e 3), definite sulla base dei precedenti dati di censimento, che le hanno individuate come areali ottimali per il pascolo dei gruppi di camoscio presenti. Detti areali presentano confini ben definiti segnati per lo più da coste rocciose o torrenti sempre attivi, pertanto pur considerando il normale spostamento dei gruppi di animali, questi si possono definire stabili e stanziali.

| AREA DI STUDIO | SUPERFICIE (ha) |
|-------------------|-----------------|
| Val Buscagna | 363,20 |
| Via dei camosci | 141,73 |
| Piani della Rossa | 453,48 |
| Stange | 137,12 |
| Codelago | 127,55 |

Tabella 1: Zone oggetto di studio e relative estensioni.



Figura 2: Confini del parco e aree oggetto di studio.



Figura 3: Aree oggetto di studio.

Raccolta dati

Censimenti popolazione

L'attività di censimento è un momento di fondamentale importanza nel monitoraggio della fauna a vita libera, utile per comprendere la presenza di eventuali alterazioni degli equilibri che regolano la dinamica di popolazione.

La metodologia adottata all'interno del Parco per gli ungulati è caratterizzata dall'osservazione diretta da percorsi e punti fissi predeterminati. I censimenti sono ripetuti nel corso degli anni e vengono effettuati in autunno per poter stimare l'abbondanza della popolazione al netto della mortalità neonatale.

La morfologia del territorio, dominato da creste, canaloni, zone boschive, cenge e terrazzamenti, contestualmente alle abitudini più o meno elusive degli animali, pone indiscutibilmente dei limiti a tale tipologia di censimento. Tuttavia è necessario considerare che questa attività è compiuta ogni anno sempre dallo stesso personale preventivamente formato. I censimenti vengono condotti contemporaneamente nelle diverse zone del parco, secondo linee guida costanti nel tempo e registrando tutti gli avvistamenti su apposite schede di rilevamento per evitare possibili doppi conteggi.

Mentre caprioli e cervi frequentano prevalentemente zone boschive, rendendo talvolta complicata l'attività di censimento e causando spesso una sottostima dell'abbondanza delle loro popolazioni, il camoscio, che è prevalentemente un pascolatore, predilige per l'alimentazione l'ambiente aperto delle praterie alpine, permettendo così di avere dati più vicini all'effettiva consistenza.

Nell'ambito dell'indagine, condotta da giugno a novembre 2011, l'osservazione dei camosci e la raccolta dei dati di numerosità dei capi, è stata eseguita con cadenza bimestrale.

Le uscite sul campo sono state articolate in una prima fase di monitoraggio visivo: i gruppi di camosci sono stati osservati, nelle cinque zone campione, da punti fissi e da percorsi predeterminati con l'ausilio di mezzi ottici (binocolo 10x50 e cannocchiale 60x). Le osservazioni sono state effettuate all'alba e al tramonto, annotando orario, luogo di avvistamento e condizioni climatiche. Gli animali sono stati classificati in base a sesso e classe di età quando possibile, registrandone comportamento e stato fisico, per quanto osservabile a distanza.

Al fine di avere una documentazione puntuale e poter disporre eventualmente di successivi riscontri comparativi, sono stati eseguiti anche rilievi fotografici. Considerando gli oggettivi limiti di tale attività, dettati soprattutto dalla distanza, è stato utilizzato un teleobiettivo con focale 300 mm e un raccordo per l'utilizzo del cannocchiale 60x.

Raccolta dati meteorologici

Attraverso la centralina dell'Enel localizzata in prossimità della diga di Codelago (1863 metri s.l.m.), sono stati raccolti i dati meteorologici (temperature minime e massime, precipitazioni, altezza della neve al suolo) relativi a tutto il 2011. Le temperature minime registrate nei primi mesi dell'anno hanno raggiunto i -16°C , quelle massime nei mesi estivi hanno toccato punte di $22-23^{\circ}\text{C}$ (Graf. 1).

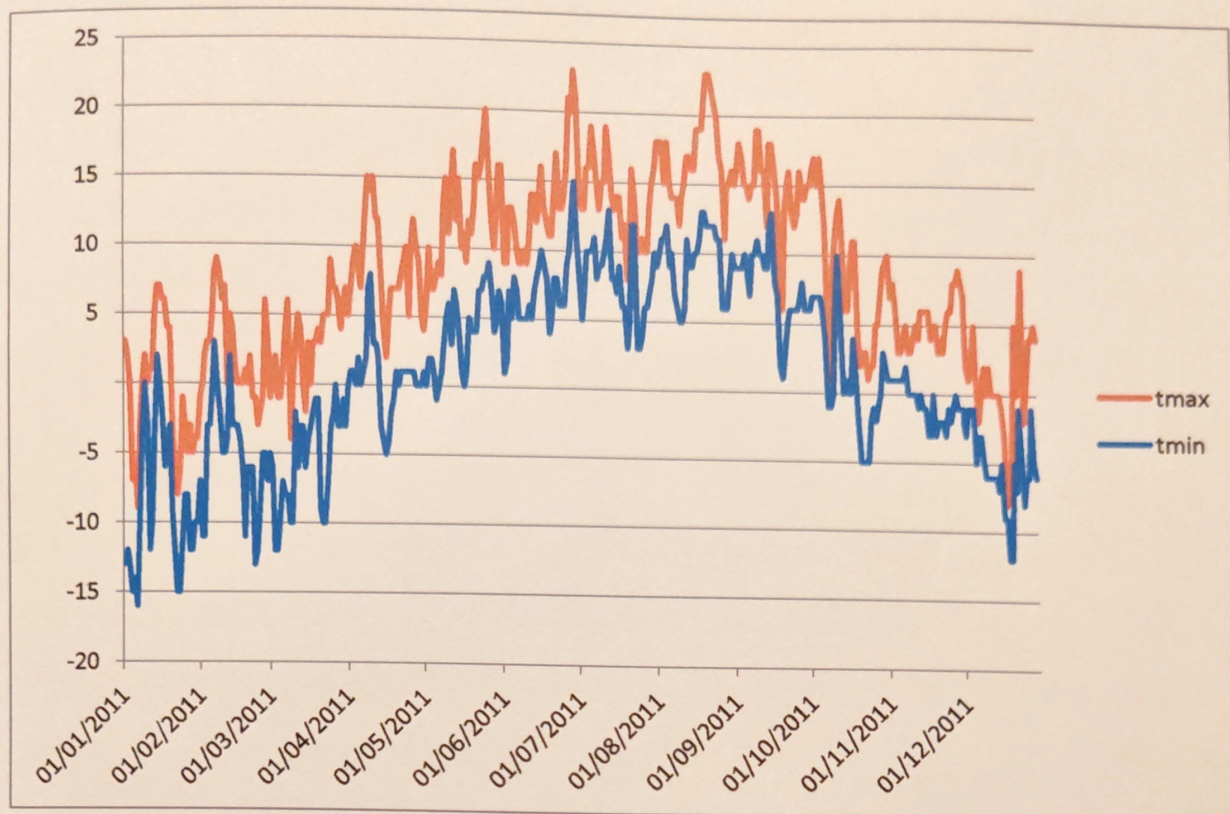


Grafico 1: Andamento delle temperature, minime e massime, nell'area dell'Alpe Devero.

Le precipitazioni, piovose e nevose, nel corso del 2011 sono state abbondanti, la coltre di neve al suolo, che ha raggiunto un'altezza massima di oltre 180 cm, è perdurata fino a maggio inoltrato (Graf. 2).

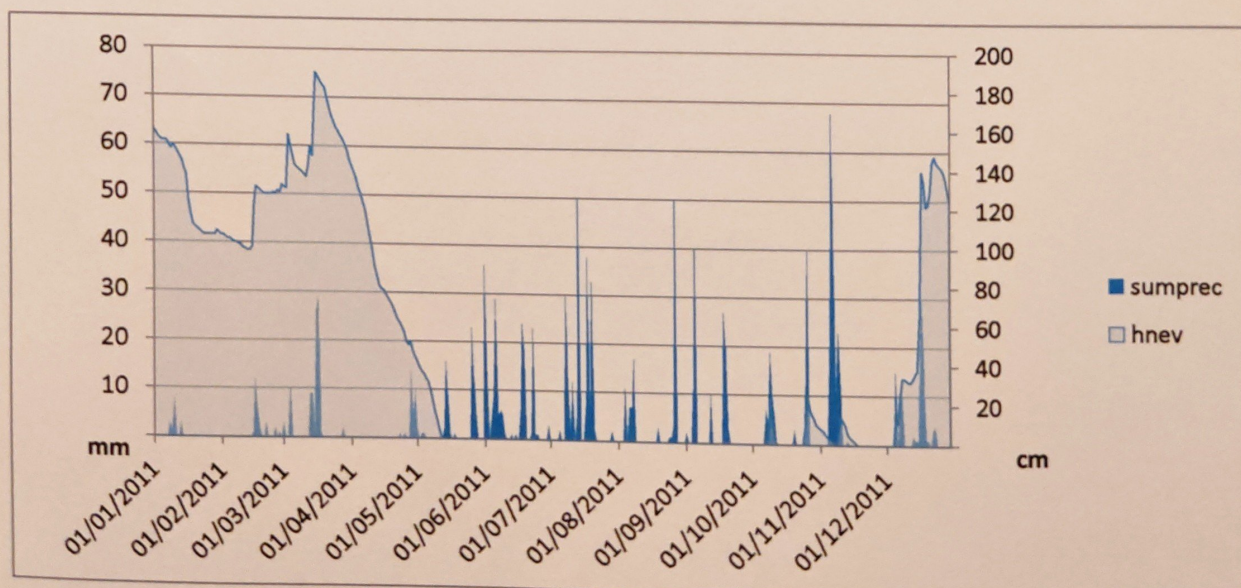


Grafico 2: Precipitazioni (sumprec) e altezza della neve al suolo (hnev).

Raccolta campioni fecali

Nella realtà territoriale in cui è stata condotta l'indagine, area protetta in cui non è ammesso alcun tipo di prelievo venatorio e non sono previste catture di animali vivi, le feci sono state l'unica matrice biologica che si è resa disponibile e su queste sono stati effettuati gli accertamenti, peraltro validi per indagare i parassiti di nostro interesse.

Dopo la fase di censimento, registrato il punto di stazionamento degli animali, si attendeva il naturale allontanamento e si procedeva quindi a raggiungere il posto per la raccolta delle feci, distinguendo se si trattasse di materiale fresco o dei giorni precedenti. Inoltre, considerando le condizioni di simpatria tra le diverse specie di ungulati presenti nell'area di studio, accertata e registrata anche nel corso dell'indagine, sono stati prelevati campioni fecali di cervi e caprioli, cosa che peraltro non è stata possibile per lo stambecco.

I campioni sono stati posti in provette da 50 ml registrando numero progressivo, specie ospite, classe d'età (distinta in cl. 0 e adulti), data e luogo di prelievo. Le provette, posizionate immediatamente in borsa frigo, sono state conservate alla temperatura di refrigerazione (4°C) fino all'arrivo in laboratorio. Successivamente una parte del materiale raccolto è stato congelato a -20°C per le indagini immunoenzimatiche, mentre la restante è stata utilizzata per le analisi copromicroscopiche.

In tabella 2 una sinossi dei campioni prelevati nel corso dell'indagine.

| MESE | CAMOSCIO | CERVO | CAPRIOLO | INDETERMINATE | Totale |
|---------------|-----------|-----------|-----------|---------------|------------|
| Giugno | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| Luglio | 16 | 6 | 1 | 2 | 25 |
| Agosto | 13 | 3 | 4 | 1 | 21 |
| Ottobre | 25 | 12 | 2 | 13 | 52 |
| Novembre | 18 | 4 | 5 | 0 | 27 |
| Totale | 74 | 25 | 12 | 16 | 127 |

Tabella 2: Numero di campioni totali prelevati nel corso dell' indagine.

Rispetto al totale di 127 campioni, 83 erano freschi, emessi nella stessa giornata di prelievo. Su questi ultimi sono state effettuate le indagini immunoenzimatiche e copromicroscopiche (Tab. 3).

| MESE | CAMOSCIO | CERVO | CAPRIOLO | INDETERMINATE | Totale |
|---------------|-----------|-----------|----------|---------------|-----------|
| Giugno | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| Luglio | 9 | 4 | 0 | 1 | 14 |
| Agosto | 8 | 2 | 4 | 0 | 14 |
| Ottobre | 16 | 7 | 2 | 9 | 34 |
| Novembre | 12 | 4 | 3 | 0 | 19 |
| Totale | 47 | 17 | 9 | 10 | 83 |

Tabella 3: Numero di campioni freschi prelevati nel corso dei mesi di indagine.

Per quanto riguarda il camoscio, su 47 campioni di feci raccolti, 26 erano di giovani dell'anno, le restanti di soggetti sub-adulti o adulti.

Analisi di laboratorio

Analisi copromicroscopiche

Le analisi copromicroscopiche sono state effettuate sui campioni freschi entro pochi giorni dalla raccolta in campo, presso i laboratori di Parassitologia del Dipartimento di Scienze Veterinarie e Sanità Pubblica di Milano.

Sono state condotte delle analisi di tipo qualitativo e quantitativo in riferimento alle infezioni protozoarie.

Analisi qualitative

Le analisi qualitative sono state effettuate con la metodica della flottazione. Dal campione disponibile sono stati prelevati 2 grammi di feci e successivamente addizionati in un mortaio a 10 ml di soluzione Sodio Nitrato (NaNO_3) a temperatura ambiente di ca 20°C (p.s.1.2), in grado di evidenziare le oocisti protozoarie. La sospensione così ottenuta, previa filtrazione, è stata messa in provette e quindi osservata al microscopio (100x) dopo circa 20 minuti, tempo necessario affinché si verifichi la flottazione delle uova (Urquhart *et al*, 1998).

Analisi quantitative

Le analisi quantitative sono state condotte mediante metodica FLOTAC, descritta da Cringoli *et al*. (2010). La preparazione dei campioni prevede la diluizione 1:10 del materiale fecale con acqua di fonte. La sospensione così prodotta è stata omogeneizzata e successivamente filtrata e centrifugata a 1500 rpm per 3 minuti. Una volta eliminato il surnatante il campione è stato portato al valore di 6 ml utilizzando una soluzione di Magnesio Solfato (FS6: MgSO_4) avente peso specifico di 1.28. Una volta riempite le camere del dispositivo e sottoposto quest'ultimo a

centrifugazione a 1000 rpm per 5 minuti, è stato possibile contare le oocisti con l'utilizzo del microscopio con oculare a ingrandimento 100x. La conta delle due camere fornisce il valore di OPG (oocisti per grammo di feci).

I valori di OPG registrati per ogni campione sono stati sottoposti all'analisi della varianza, tramite test ANOVA e successivi test post hoc, per poter valutare il grado di variabilità all'interno e tra i gruppi stessi.

Le variabili prese in considerazione nell'analisi sono state: specie ospite, età, zona di prelievo, periodo di raccolta dei campioni e condizioni climatiche.

Analisi immunoenzimatiche

Tra i metodi di diagnosi di criptosporidiosi e giardiasi, il più frequentemente utilizzato è l'esame di strisci di materiale fecale previa colorazione di Ziehl-Nielsen. Tuttavia esistono sistemi più efficaci e precisi come la PCR, che permette di amplificare e isolare il genoma del parassita (Cacciò, 2004), oppure l'immunofluorescenza diretta tramite l'utilizzo di anticorpi anti-*Cryptosporidium parvum* marcati. Quest'ultimo metodo ha dimostrato di avere scarsa cross-reattività con altri eventuali patogeni e inoltre può rilevare il protozoo anche in specie ospite diverse (Pires Teixeira *et al*, 2011). Infine va considerata la metodica ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay), che utilizza specifici anticorpi legati a determinati enzimi.

Considerando che per la diagnosi di criptosporidiosi e giardiasi la metodica ELISA garantisce una maggiore sensibilità (Giadinis *et al*, 2012), abbiamo considerato opportuno utilizzare i sistemi immunoenzimatici anche per il nostro studio.

Per l'indagine sono stati utilizzati kit commerciali RIDASCREEN della *r-biopharm* per *Giardia* e *Cryptosporidium* per la ricerca di coproantigeni di superficie che sfruttano la metodica sandwich: all'interno dei pozzetti, sulle cui pareti sono

fissati gli anticorpi verso l'antigene ricercato, viene introdotto il campione da analizzare, previa diluizione. Successivamente i pozzetti sono soggetti a una serie di lavaggi per eliminare l'eventuale presenza di antigene in eccesso. L'ultimo passaggio prevede l'utilizzo di determinati anticorpi in grado di legarsi al complesso antigene-anticorpo. Tali anticorpi sono marcati con enzimi che, a contatto con il proprio substrato, danno luogo ad una modificazione colorimetrica quantificabile con lo spettrofotometro tramite valutazione fotometrica a 450 nm. L'intensità registrata dallo strumento fornisce una stima quantitativa in base a scale d'intensità prestabilite.

È stato stabilito il valore di cut-off secondo le indicazioni della casa produttrice del kit, secondo una formula che prevede di sommare un coefficiente costante (0,15) all'estinzione misurata del controllo negativo, valutando il 10% come valore di estinzione. I risultati ottenuti sono stati confrontati con tale valore soglia e in base a questo sono stati valutati negativi (se inferiori) e positivi (se superiori).

- Risultati -

Analisi dati di censimento

I dati raccolti direttamente nel corso dell'estate-autunno 2011 sono stati implementati con quelli storici a partire dal 1993, in rapporto alle varie classi di età e sesso. Dal grafico 3 si evidenzia in particolare una tendenza negativa riguardante tutte le classi che è riportata a livello di popolazione nel grafico successivo (Graf. 4).

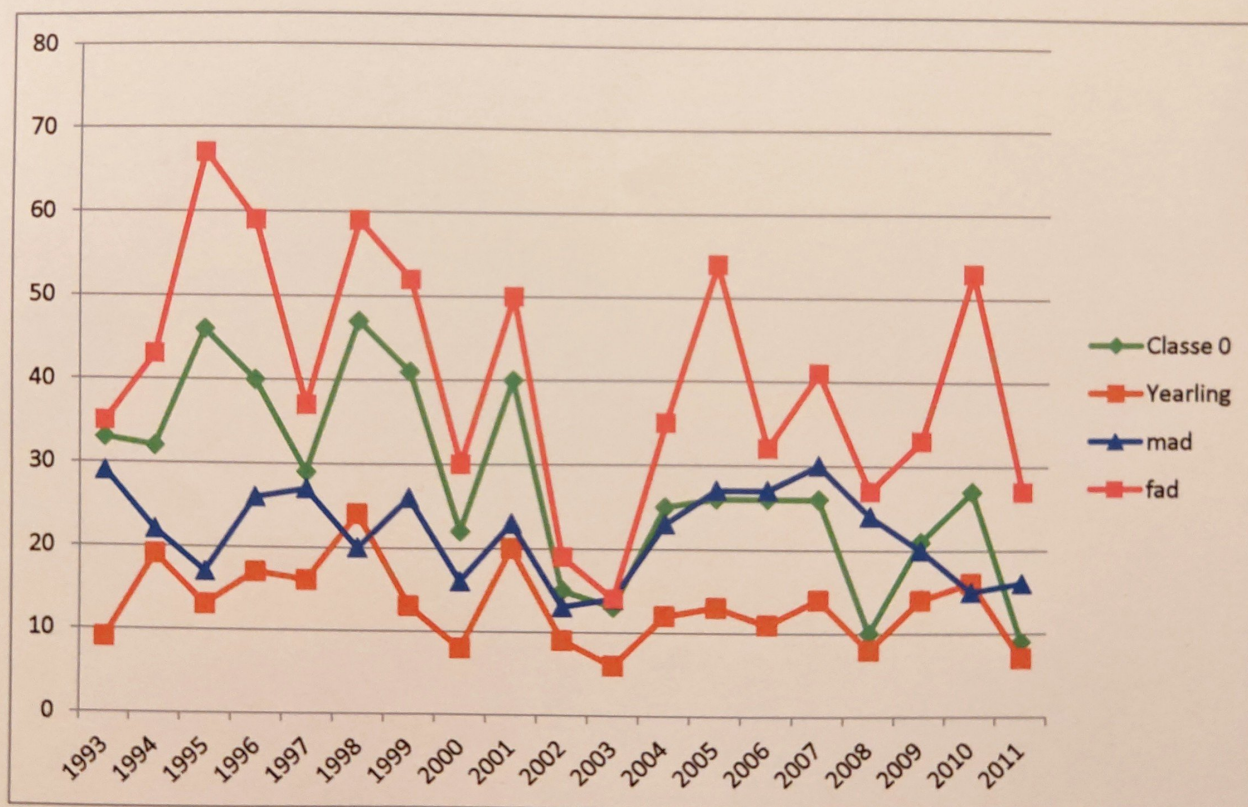


Grafico 3: Andamento della popolazione di camoscio nell'area Alpe Devero. Mad: maschi adulti; Fad: femmine adulte.

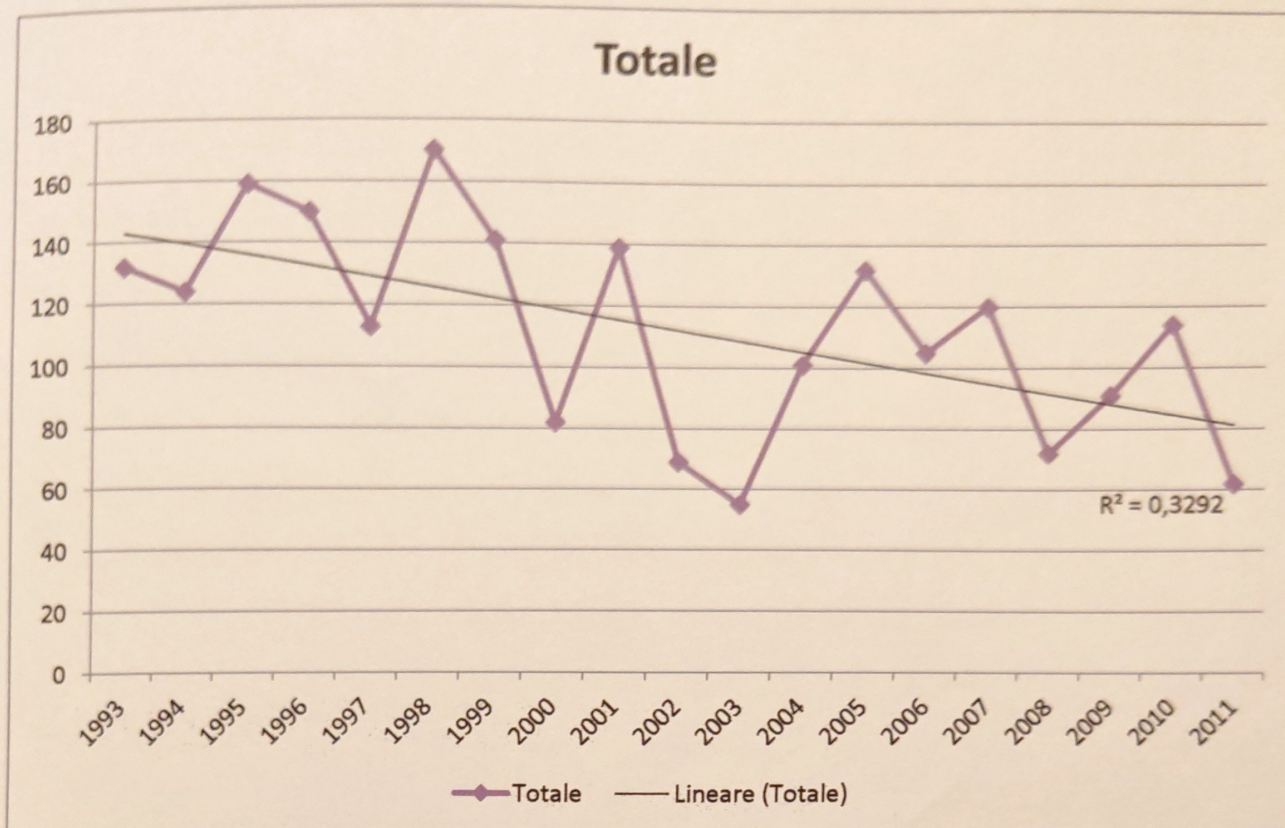


Grafico 4 Andamento della popolazione totale di camoscio nella zona Alpe Devero.

Nell'analisi dei dati demografici sono stati considerati sex ratio, tasso di natalità e tasso di sopravvivenza giovanile.

Il tasso di natalità è stato calcolato rapportando il numero di piccoli al numero di femmine stimato (dato dalla somma tra le femmine censite e il rapporto tra numero degli adulti indeterminati e la sex ratio calcolata durante il censimento).

Dal grafico 5 si osserva che l'andamento delle femmine e degli individui di classe 0 è soggetto a continue oscillazioni, registrando un accentuato calo nel corso del 2003. Il tasso di natalità si attesta su valori medi del 60%.

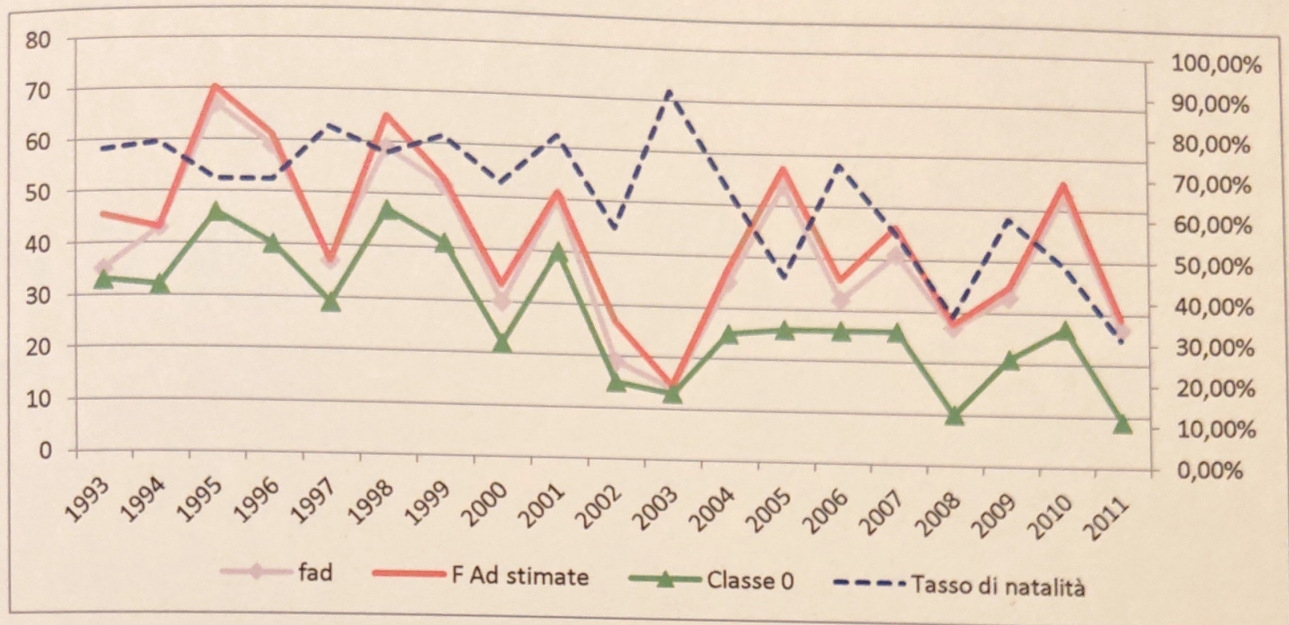


Grafico 5: Andamento della popolazione femminile adulta (fad) e dei giovani di classe 0.

Il tasso di sopravvivenza giovanile è calcolato sulla base del rapporto tra gli yearling e i piccoli di classe 0 dell'anno precedente (Graf. 6).

L'andamento osservato è decisamente altalenante, nel corso degli anni si rileva un netto divario tra le due classi di età.

Il tasso di sopravvivenza giovanile è molto variabile, affermandosi su valori medi del 50%.

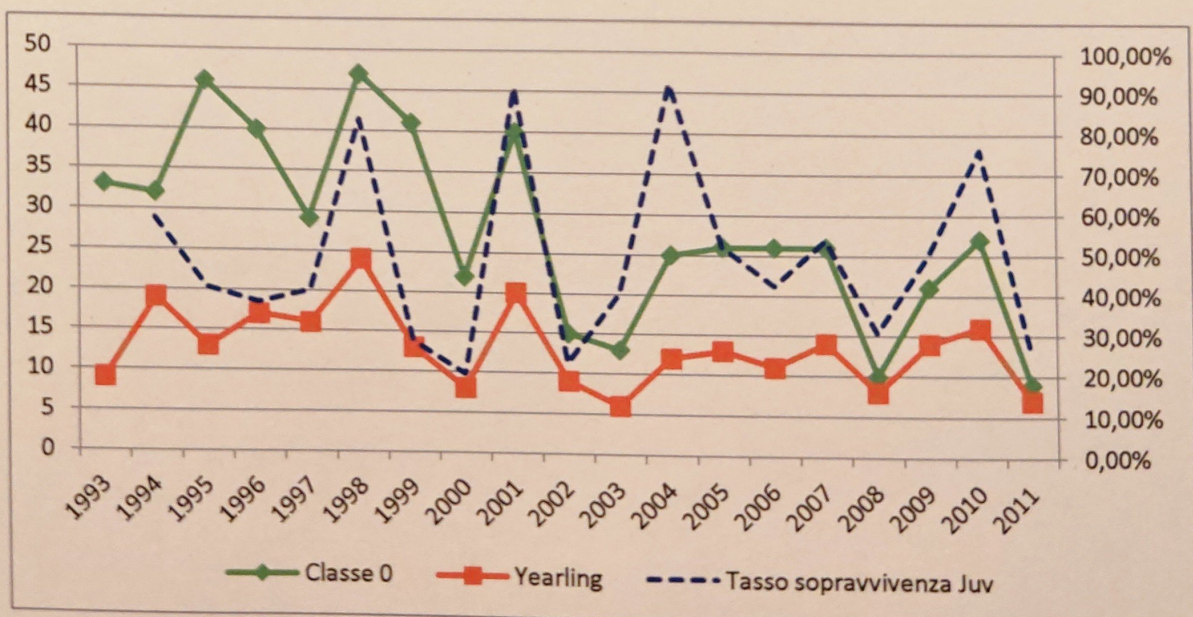


Grafico 6: Andamento del tasso di sopravvivenza giovanile in relazione al numero di individui di cl.0 e di yearling.

Nel corso del 2011 sono state effettuate uscite sul campo nell'arco di 16 giorni, suddivisi nei diversi mesi estivi e autunnali. Data la difficoltà legata all'attività di censimento, si è cercato, per quanto possibile, di predisporre le osservazioni nei periodi più favorevoli dal punto di vista climatico, al fine di evitare la sottostima della numerosità dei gruppi di camoscio.

Nel grafico 7 è riassunto il numero dei capi osservati nei diversi mesi di studio.

Nella tabella 4 sono riportati i dettagli dei dati di censimento riguardanti il periodo di monitoraggio, la zona di avvistamento e le condizioni climatiche con l'indicazione della temperatura media registrata.

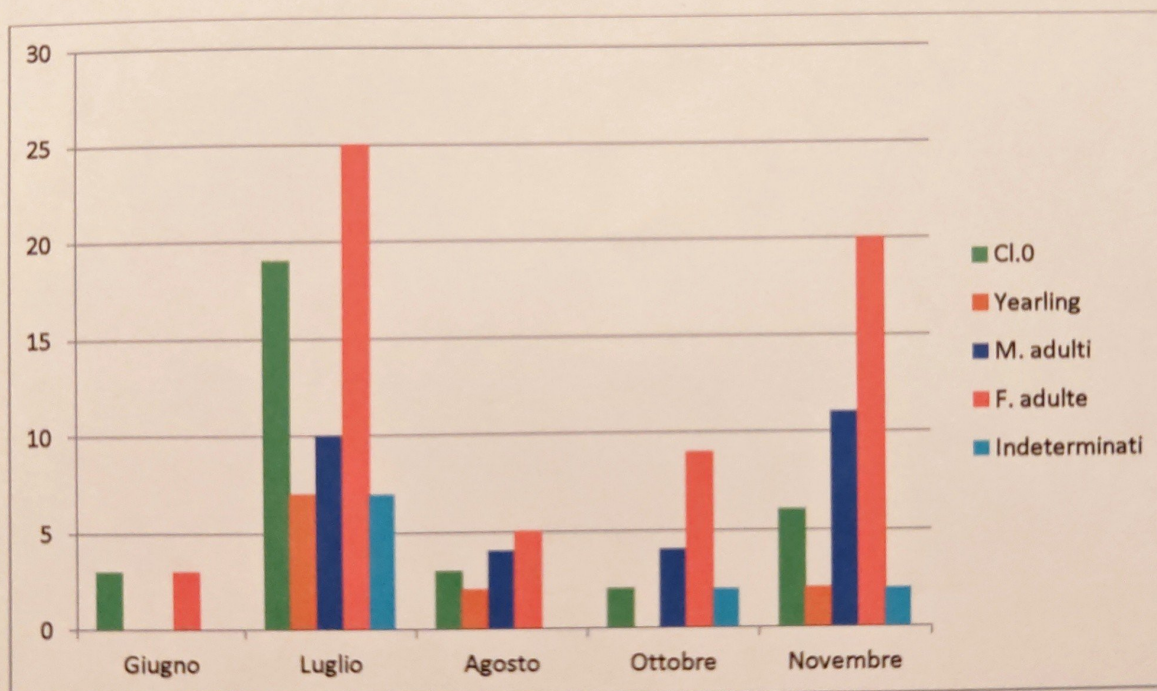


Grafico 7: Dati dei censimenti dei gruppi di camoscio nel periodo di studio (anno 2011).

| DATA | ZONA | METEO | CI. 0 | YEAR. | ADULTI | | | TOT |
|---------------------------------------|-------------------|--|-------|-------|--------|----|-----|-----|
| | | | | | M | F | IND | |
| 22/06/2011 | Via dei camosci | Pioggia TM 12,5°C | 3 | | | 3 | | 6 |
| Dal 04/07/2011 al 06/07/2011 | Via dei camosci | Pioggia Tempo variabile TM 13,5°C | 8 | | 2 | 8 | | 18 |
| | Stange | | | | | 2 | 2 | |
| | Codelago | | 1 | | | 1 | | 2 |
| Dal 20/07/2011 al 22/07/2011 | Val Buscagna | Pioggia abbondante 20/07 Soleggiato i restanti giorni TM 9°C | 1 | | 3 | 3 | | 7 |
| | Via dei camosci | | 7 | 1 | | 10 | 5 | 23 |
| | Stange | | 6 | 3 | 4 | 7 | | 20 |
| | Codelago | | 4 | 3 | 1 | 5 | | 13 |
| Dal 17/08/2011 al 19/08/2011 | Val Buscagna | Soleggiato TM 15°C | | | 1 | | | 1 |
| | Piani della Rossa | | 2 | 1 | | 2 | | 5 |
| | Stange | | 1 | 1 | 1 | 3 | | 6 |
| | Codelago | | | | 2 | | | 2 |
| Dal 12/10/2011 al 14/10/2011 | Val Buscagna | Soleggiato Vento moderato TM 9°C | | | 1 | 5 | 2 | 8 |
| | Via dei camosci | | | | 2 | | | 2 |
| | Stange | | 2 | | | 4 | | 6 |
| | Codelago | | | | 1 | | | 1 |
| Dal 14/11/2011 al 16/11/2011 | Val Buscagna | Soleggiato TM 2,5°C | 1 | 1 | 3 | 1 | 1 | 7 |
| | Via dei camosci | | 2 | | 4 | 14 | 1 | 21 |
| | Stange | | 1 | | 1 | 2 | | 4 |
| | Codelago | | 2 | 1 | 3 | 3 | | 9 |

Tabella 4: Dati dei censimenti mensili dei camosci. YEAR=yearling; M=maschi; F=femmine; IND=indeterminati.

I rilievi fotografici eseguiti nel corso dell'indagine hanno permesso una più accurata valutazione dello stato fisico apparente dei camosci. A titolo esemplificativo si riporta lo scatto effettuato in data 5 luglio 2011, alle h 8.55 nella zona Via dei camosci, in cui è ripreso un piccolo branco di 5 femmine adulte con i relativi capretti (Fig. 4). Non sono stati osservati ritardi nella muta, sia primaverile che invernale, come non sono state segnalate alterazioni alopeciche a carico del mantello, stati di emaciazione o fenomeni di prurito intenso. Inoltre si è registrato il sopraggiungere del calore nei tempi attesi.



Figura 4: Piccolo branco di camosci nella zona Via dei camosci, sono visibili 5 femmine adulte con i relativi capretti.

Analisi copromicroscopiche

Analisi qualitative

I parassiti gastroenterici riscontrati sono ascrivibili alle classi *Coccidia*, *Nematoda*, con il rilevamento di organismi della famiglia *Trichostrongyloidea* e *Strongyloidea* e a quella *Cestoda*, con organismi appartenenti alla famiglia *Anoplocephalidae*.

Degli 83 campioni fecali freschi, 75 sono risultati positivi a protozoi enterici, in 60 campioni sono stati riscontrati uova e larve di nematodi e in 6 campioni uova di cestodi, prevalentemente del genere *Moniezia spp.* Solo due campioni sono risultati negativi a tali classi di parassiti. Le distribuzioni sono evidenziate nella tabella 5.

| SPECIE | | NEMATODI | CESTODI | PROTOZOI |
|-----------------------------|---------------|-----------|----------|-----------|
| Camoscio (47 campioni) | Cl. 0 | 16 | 2 | 25 |
| | > 1 anno | 15 | 1 | 17 |
| | Totale | 31 | 3 | 42 |
| Cervo (17 campioni) | | 14 | 1 | 15 |
| Capriolo (9 campioni) | | 8 | 1 | 9 |
| Indeterminati (10 campioni) | | 7 | 1 | 9 |

Tabella 5: Distribuzione delle classi di parassiti nelle specie ospite monitorate.

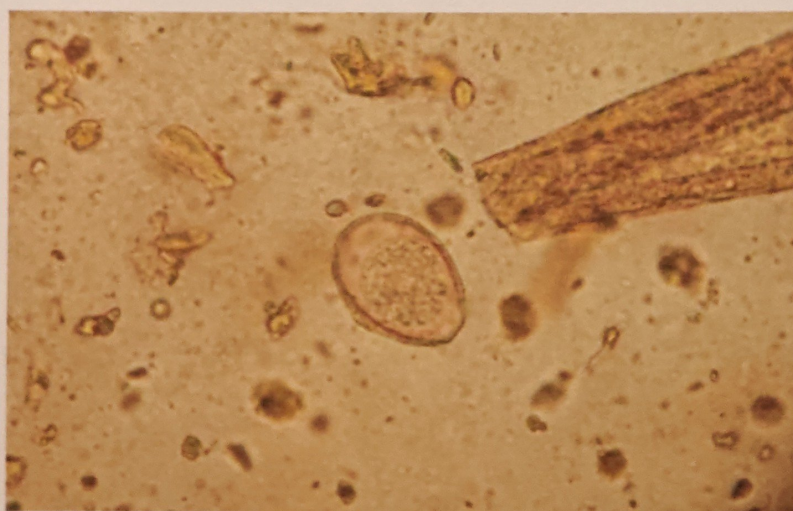


Figura 5: Oocisti di coccidi.

Analisi quantitative – Valori OPG

La conta dei coccidi effettuata sui campioni fecali freschi ha fornito dei risultati molto eterogenei: 8 campioni sono risultati negativi, in pochi casi sono state contate più di 3.000 oocisti per grammo di feci, fino al picco di 28.088 OPG in un campione di feci di camoscio.

Degli 8 campioni negativi, due appartenevano a piccoli (di camoscio e cervo) e i rimanenti 6 ad adulti (4 di camoscio, 1 di cervo e 1 di indeterminato).

Nella tabella 6 sono riassunti i valori minimi, massimi e le mediane delle emissioni di oocisti nelle diverse specie, distinguendo la classe d'età per ciò che concerne il camoscio.

| PERIODO | | CAMOSCIO | | | CERVO | CAPRIOLO | INDET. |
|---------|---------|----------|----------|-------|-------|----------|--------|
| | | Cl 0 | > 1 anno | Tot | | | |
| giu-lug | min | 44 | 0 | 0 | 0 | / | / |
| | MAX | 128 | 3552 | 3552 | 0 | / | / |
| | Mediana | 88 | 18 | 44 | 0 | / | / |
| lug-ago | min | 28 | 0 | 0 | 12 | 4 | 228 |
| | MAX | 28088 | 0 | 28088 | 1192 | 776 | 228 |
| | Mediana | 72 | 0 | 68 | 672 | 594 | 228 |
| ott-nov | min | 0 | 0 | 0 | 0 | 8 | 0 |
| | MAX | 2792 | 80 | 2792 | 328 | 2996 | 908 |
| | Mediana | 116 | 24 | 40 | 52 | 1108 | 454 |

Tabella 6: Valori di OPG nelle diverse specie esaminate.

Le analisi dei dati hanno evidenziato che, confrontando le diverse specie ospite presenti nella zona, queste non presentano differenze statisticamente significative nelle emissioni di oocisti (Test ANOVA; $p > 0.05$) (Graf. 8).

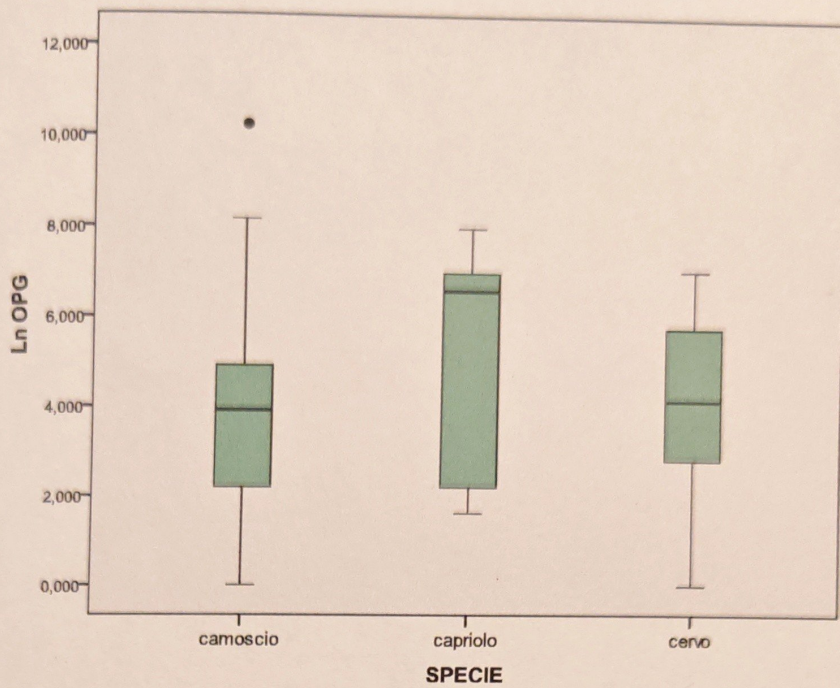


Grafico 8: Valori OPG nelle diverse specie considerate.

Nel camoscio è stata riscontrata una differenza statisticamente significativa nel valore di OPG (Test ANOVA; $p < 0.01$) tra il gruppo degli individui di classe 0 e gli adulti (Graf. 9).

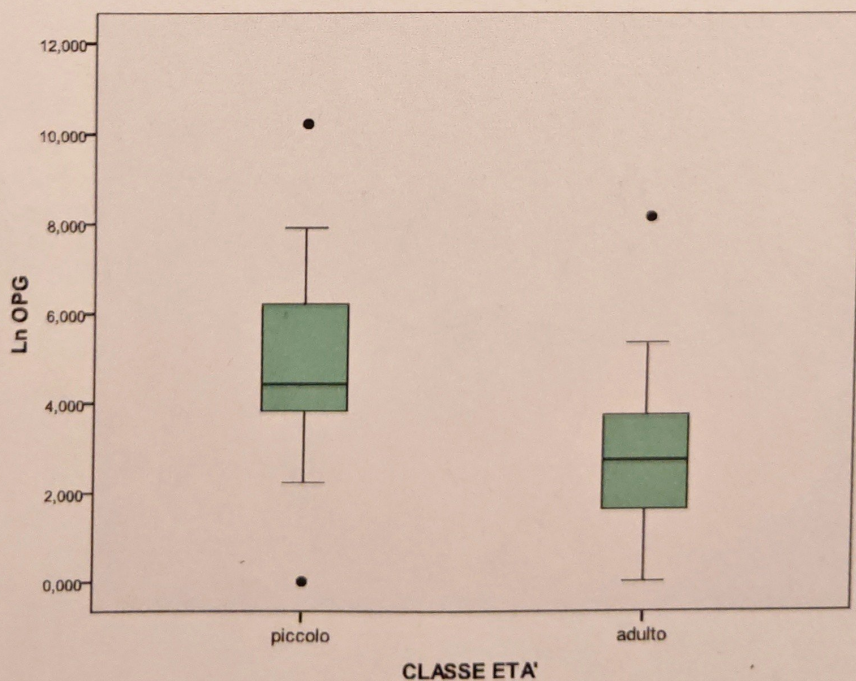


Grafico 9: valori di OPG nelle diverse classi d'età del camoscio.

Considerando i tre periodi di studio durante i quali sono stati osservati gli animali e raccolti i campioni fecali (giugno e prima parte di luglio, seconda parte di luglio e agosto e infine ottobre e novembre), risulta che i valori di OPG riscontrati nei diversi intervalli di tempo non presentano differenze statisticamente significative (Test ANOVA; $p > 0.05$), il medesimo risultato si desume anche valutando l'emissione delle oocisti nei diversi periodi considerando ciascuna classe d'età nei camosci (Graf. 10).

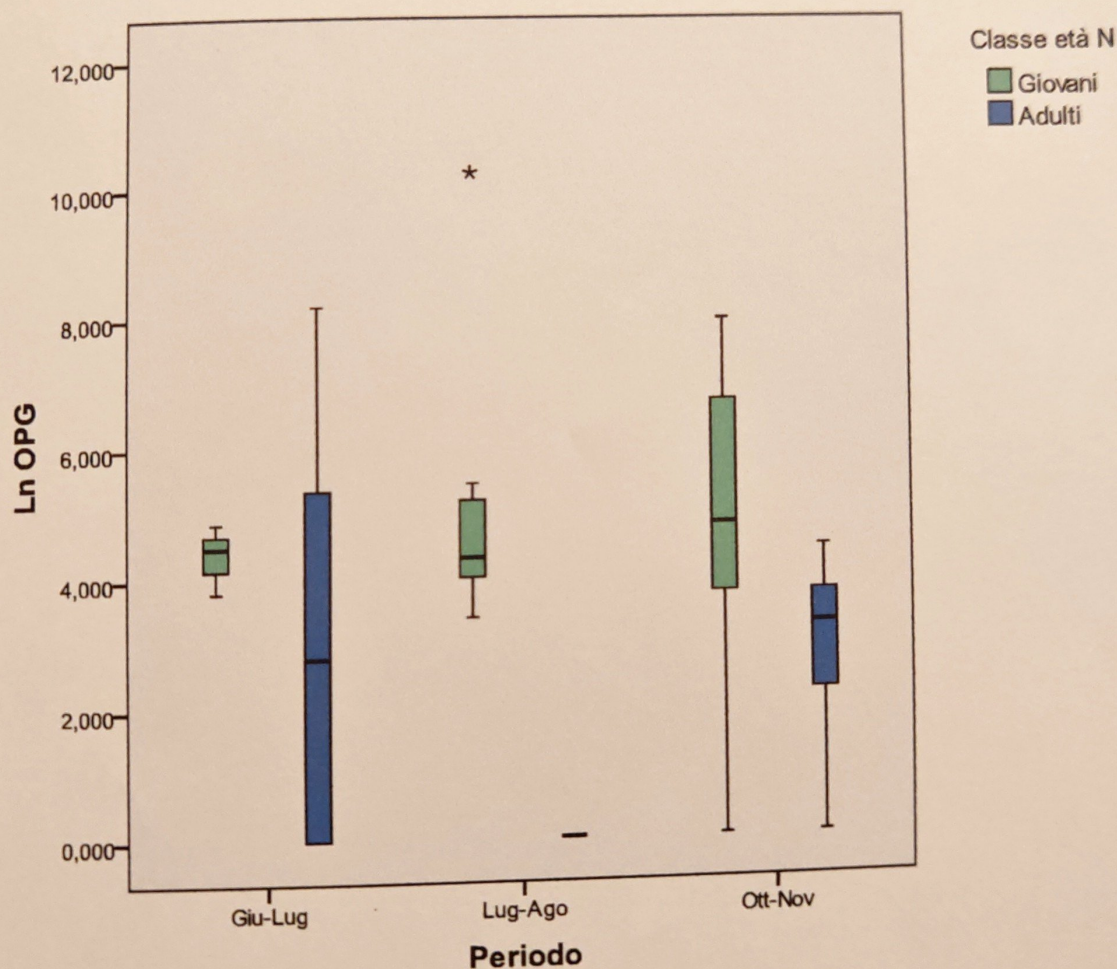


Grafico 10: Emissione delle oocisti nelle due classi d'età, andamento nei diversi periodi di studio.

Confrontando i valori di OPG rispetto all'area in cui è avvenuto il prelievo di materiale fecale, nel complesso non si evidenziano differenze significative (Test ANOVA; $p > 0.05$), tuttavia adottando il test post hoc di Scheffé si rileva una

differenza statisticamente significativa ($p < 0.05$) tra la zona della Val Buscagna e quella di Codelago (Graf. 11).

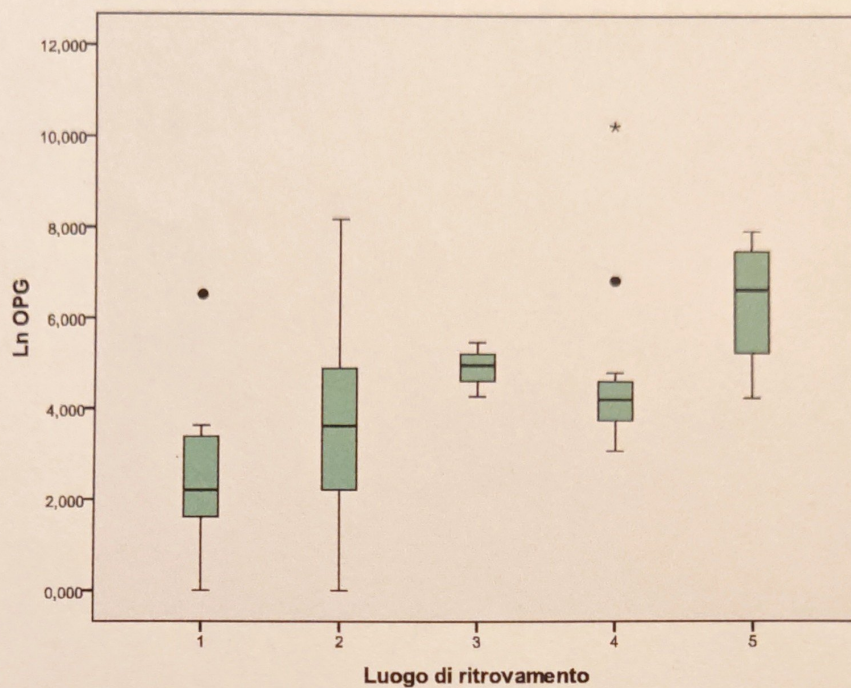


Grafico 11: andamento delle emissioni delle oocisti nelle diverse aree di prelievo.

Analisi immunoenzimatiche

Le analisi immunoenzimatiche, condotte sui 47 campioni fecali freschi di camoscio, hanno riportato dei valori di controllo conformi a quanto prescritto dalla casa produttrice per stabilire la validità del test (valore d'estinzione del controllo positivo >0.8 , del controllo negativo <0.2).

Il valore del cut-off corrisponde a 0,21083 per i campioni sottoposti a indagine per *Cryptosporidium*, e a 0,21194 per la ricerca di *Giardia*.

I risultati relativi alla ricerca dei suddetti protozoi, ricavati dalla lettura a 450 nm effettuata con lo spettrofotometro, sono riportati nelle tabelle 7 e 8.

Due campioni di feci di camoscio sono risultati positivi per *Cryptosporidium* con valori di 2,8922 e 1,1201. Entrambi i soggetti in questione appartenevano alla classe 0. Le fatte sono state raccolte in agosto nella zona dello Stange.

Tutti i campioni testati sono risultati negativi per *Giardia*.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| A | 0,0409 | 0,0406 | 0,0407 | 0,0418 | 0,0409 | 0,0406 | 0,0426 |
| B | 2,9357 | 2,4637 | 0,0425 | 0,0409 | 0,0413 | 0,0401 | 0,0413 |
| C | 0,0414 | 0,0404 | 0,0411 | 0,0403 | 0,0433 | 0,0404 | 0,0431 |
| D | 0,0405 | 0,0413 | 0,0401 | 0,0410 | 0,0410 | 0,0404 | |
| E | 0,0404 | 0,0411 | 0,0404 | 0,0403 | 0,0410 | 0,0402 | |
| F | 0,0401 | 0,0929 | 0,0404 | 0,0400 | 0,0416 | 0,0406 | |
| G | 0,0614 | 0,0559 | 0,0409 | 0,0406 | 0,0410 | 0,0432 | |
| H | 0,0413 | 0,0403 | 0,0403 | 0,0399 | 0,0400 | 0,0412 | |

Tabella 7: Risultati dell'analisi per la ricerca degli antigeni di *Giardia*. In blu i controlli negativi, in rosso i controlli positivi.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| A | 0,0397 | 0,0398 | 1,1201 | 0,0425 | 0,0417 | 0,0409 | 0,0427 |
| B | 1,3567 | 1,1797 | 0,0410 | 0,0423 | 0,0429 | 0,0411 | 0,0517 |
| C | 0,0426 | 0,0426 | 0,0406 | 0,0420 | 0,0422 | 0,0451 | 0,0441 |
| D | 0,0402 | 0,0425 | 0,0408 | 0,0405 | 0,0409 | 0,0403 | |
| E | 0,0404 | 0,0428 | 0,0406 | 0,0408 | 0,0418 | 0,0408 | |
| F | 0,0416 | 0,0472 | 0,0426 | 0,0418 | 0,0402 | 0,0408 | |
| G | 0,0422 | 0,0425 | 0,0414 | 0,0422 | 0,0437 | 0,0413 | |
| H | 0,0402 | 2,8922 | 0,0411 | 0,0418 | 0,0401 | 0,0405 | |

Tabella 8: Risultati dell'analisi per la ricerca degli antigeni di *Cryptosporidium*. In blu i controlli negativi, in rosso i controlli positivi, in giallo i campioni positivi.

Nella figura 6 sono raffigurate le piastre ELISA utilizzate per effettuare la ricerca dei protozoi. Si può osservare visivamente la differenza colorimetrica dei controlli positivi e dei due pozzetti in cui sono stati rilevati gli antigeni di *Cryptosporidium*.

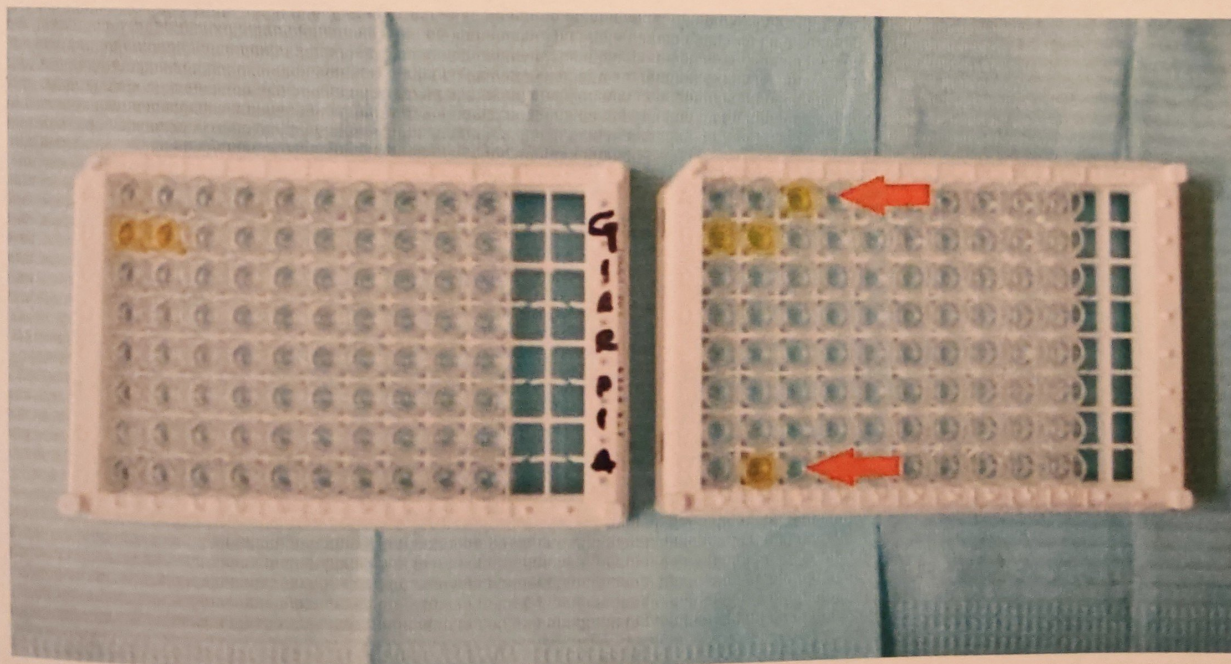


Figura 6: Piastre ELISA per la ricerca di *Giardia* (sinistra) e *Cryptosporidium* (destra).

- Discussione -

Prendendo in considerazione i dati di censimento messi a disposizione dall'Ente Parco, si può osservare un progressivo calo dei camosci, nonostante alcuni dati siano stati inficiati dalla presenza di neve al suolo, sottostimando di fatto la popolazione. Il decremento riguarda tutte le classi di età, anche se la classe dei maschi adulti nel corso degli anni si è mantenuta abbastanza stabile, subendo poche oscillazioni, probabilmente perché nel periodo autunnale tali individui tendono a diventare maggiormente territoriali e a spostarsi di meno per monitorare i propri areali di corteggiamento. La sex ratio, calcolata come rapporto tra femmine e maschi adulti, si attesta su valori medi di 1,5 a favore delle femmine. La motivazione di questo dato si potrebbe ricercare nella dinamica comportamentale di questa specie: mentre le femmine costituiscono piccoli gruppi stanziali, i maschi tendono ad allontanarsi dal luogo di nascita per ricercare nuovi territori.

Le classi giovanili rappresentano le categorie più soggette ad alterazioni demografiche. Confrontando di anno in anno il rapporto tra yearling e classe 0 censiti l'anno precedente, emerge come il tasso di sopravvivenza dei piccoli sia quasi sempre abbastanza ridotto. Nonostante in alcuni anni tale tasso raggiunga anche valori intorno al 90% (anni 2001 e 2004), la tendenza generale è quella di un assestamento intorno a valori medi del 50%. E' plausibile che i valori del 2001 e del 2004 siano in qualche modo condizionati dai dati di censimento e che siano da collegare non tanto ad una buona contattabilità degli yearling, quanto ad una scarsa contattabilità dei classe 0 nell'anno precedente.

Analizzando il rapporto tra femmine adulte e classe 0, emerge inoltre come il tasso di natalità, a partire dal 1993, abbia raggiunto valori intorno all'80%, che sono rimasti costanti fino al 2003, anno in cui il numero delle femmine e quello

dei capretti differivano solo per un'unità e il tasso di natalità ha raggiunto un valore del 90%, questo porterebbe ad escludere eventuali problemi di natalità. Nel corso del 2003 assistiamo a un pronunciato calo di tutte le classi di individui, presumibilmente dovuto alle torride condizioni climatiche. Confrontando infatti i dati meteorologici, disponibili sul sito www.meteosvizzero.ch, si può constatare l'innalzamento della temperatura di circa 4-5°C rispetto alle medie stagionali.

A partire dall'anno successivo si osserva come il divario tra le due curve (fad e cl.0) si accentui, con una diminuzione quindi del tasso di natalità. Si può infatti affermare che negli ultimi anni il numero delle femmine sia pressoché il doppio di quello dei capretti, portando ad un rapporto piccoli/femmine di 1:2. Pur aumentando lo scarto tra le due classi, il calo del numero dei capretti ricalca il calo del numero delle femmine.

Prendendo in considerazione i dati dei censimenti effettuati (cfr.Tabella 4) nel corso del 2011 va sottolineata la marcata diminuzione nel numero degli animali nel corso dei mesi. I mesi più caldi possono aver verosimilmente causato una sottostima nel conteggio degli individui per la loro minor contattabilità, in quanto tendono a stare al riparo di qualche sporgenza rocciosa o della vegetazione, rendendo difficile l'attività di censimento. D'altra parte il censimento effettuato a novembre, in collaborazione con il personale di vigilanza, in un periodo di buona contattabilità per la specie, ha evidenziato come la popolazione di adulti sia rimasta pressoché invariata nel corso dell'estate, mentre il numero di piccoli e di yearling sia notevolmente calato. Considerando che i capretti stanno generalmente sempre insieme alla madre e che l'allattamento si protrae anche fino all'autunno inoltrato, la diminuzione da 19 a 6 soggetti rappresenta un dato allarmante rispetto alla dinamica di popolazione, quale espressione di una possibile mortalità estiva. Peraltro, considerando che gli yearling si spostano

frequentemente dai soliti areali frequentati (Mustoni *et al*, 2002), tale diminuzione potrebbe non essere necessariamente riferibile a mortalità.

Relativamente alle possibili cause di mortalità dei piccoli nati nel 2011, considerando il perdurare del manto nevoso al suolo fino a maggio inoltrato (cfr. grafico 2), questo potrebbe aver interferito sull'alimentazione delle madri e di riflesso sull'apporto nutritivo e sullo stato immunitario dei capretti.

Alla luce di queste considerazioni, potrebbe rivestire una certa importanza effettuare dei censimenti regolari anche alla fine della stagione primaverile per valutare la consistenza della popolazione al netto della mortalità invernale e confrontare l'impatto che questa può avere rispetto alla mortalità registrata nel successivo periodo estivo-autunnale.

Dall'analisi ELISA effettuata sui campioni freschi di feci di camoscio il riscontro di 2 campioni positivi per *Cryptosporidium* assume di per sé una valenza particolare in rapporto alla diminuzione di piccoli. In effetti, a prescindere dal fatto che in bibliografia non è stata riscontrata alcuna segnalazione di questo protozoo nel camoscio, va sottolineato che dette positività sono state osservate nell'area dello Stange in cui si è verificato un calo dei capretti da 6 a 2 individui, con un decremento del 66% rispetto al 50% verificatosi nelle altre zone (Tabella 4).

Pur non essendo disponibili dati rispetto alla presenza di *Cryptosporidium* negli animali domestici monticanti all'Alpe Devero, sembra comunque improbabile il loro ruolo nella trasmissione al camoscio in quanto i campioni di feci risultati positivi sono stati raccolti in una zona dove non è presente attività pascoliva.

Considerando che la mortalità neonatale provocata da questo protozoo si verifica nelle prime settimane di vita, almeno per quanto noto nelle specie domestiche (Manfredi *et al*, 2010), e che la nascita dei piccoli avviene tra la fine di maggio e l'inizio di giugno, non si può escludere a priori che già al momento del primo

censimento (20 luglio 2011) si fossero verificate delle perdite di capretti, e quindi che anche il dato di positività per tale parassita sia stato sottostimato.

Inoltre uno studio recente condotto sulla popolazione di stambecco in Svizzera (Marreros *et al*, 2012) ha dimostrato per la prima volta dei casi di positività per *Cryptosporidium*. La tecnica utilizzata per la ricerca di tale parassita è stata la colorazione Ziehl Nielsen e seguente osservazione con microscopio a immersione con oculare 1000x. Considerando che lo stambecco è presente anche nell'area di studio con densità crescenti sarebbe opportuno valutare l'eventuale ruolo di questa dinamica all'interno della realtà oggetto di studio.

Contestualmente, dalle analisi si evince la negatività a *Giardia* dei campioni analizzati. Considerando anche il perdurare dell'emissioni di oocisti per tale protozoo, la negatività rilevata potrebbe di fatto escluderlo dalle possibili cause di mortalità infantile.

Dalle analisi quantitative dell'emissione di *Eimeria* spp. si rilevano dati nettamente inferiori rispetto a quelli rinvenuti in precedenti studi effettuati nel camoscio alpino (Stancampiano *et al*, 2003). Si riscontra una differenza importante tra l'emissione di oocisti, sensibilmente maggiore tra gli individui di classe 0 rispetto agli adulti. Nei capretti l'incremento dei valori di OPG con l'avanzare della stagione può trovare una spiegazione nel fatto che nel periodo post-natale assumono prevalentemente una dieta latte, aumentando gradatamente l'apporto di foraggio con l'età. Considerando il ciclo oro-fecale dei coccidi, l'infezione del piccolo avviene più facilmente tramite la contaminazione del pascolo e dell'acqua, oltre a un certo grado di trasmissione parassitaria a partire dalla madre portatrice e asintomatica.

Confrontando le diverse zone di campionamento, nonostante nel complesso statisticamente non venga registrata alcuna differenza significativa, si può

osservare che le emissioni delle oocisti presentano valori nettamente superiori nella zona di Codelago rispetto a quella della Val Buscagna, prescindendo dal periodo di campionamento. Tuttavia il minor valore di OPG riscontrato in Val Buscagna potrebbe essere parzialmente spiegato dalla densità di popolazione del camoscio nettamente inferiore rispetto a quella registrata, anche nel corso delle osservazioni del 2011, nelle restanti aree monitorate.

Rispetto alle possibili cause di mortalità estiva, non può essere escluso a priori il ruolo dei predatori nella dinamica di popolazione, il cui impatto risulta difficile quantificare nella zona studiata a causa di limiti prettamente logistici. In effetti, nonostante la presenza del lupo, della lince e dell'aquila sia documentata a livello di Ente Parco, il riscontro di carcasse predate rappresenta più che altro un'evenienza occasionale laddove il fenomeno si verifici in zone facilmente accessibili.

Analogamente non è possibile escludere a priori un ruolo rivestito dal disturbo antropico nell'area di studio tra le possibili cause/concause che hanno determinato il calo di capretti registrato nell'estate-autunno 2011. In effetti, durante le uscite sul campo, si è potuta osservare un'elevata fruizione da parte dei turisti soprattutto in agosto, anche nelle prime ore del mattino. Le zone più interessate erano quelle della Piana del Devero, dello Stange e di Codelago. Confrontando questo dato con i rilevamenti fatti ad agosto si nota l'effettiva diminuzione degli animali censiti, tuttavia è plausibile che questa sia dovuta non tanto alla forte presenza antropica quanto alle temperature elevate.

- Conclusioni -

L'attività di monitoraggio condotta nel corso del 2011 mette in evidenza un importante dato di mortalità estiva a carico degli individui di classe 0.

Tra le cause indagate, la positività per *Cryptosporidium* potrebbe giustificare questo dato. Nonostante la mancanza di dati bibliografici in merito renda difficoltosa l'interpretazione degli elementi emersi, quanto noto negli ovi-caprini domestici supporta l'ipotesi che questo protozoo abbia rivestito un ruolo diretto/indiretto nel determinare la mortalità estiva infantile.

D'altra parte i dati in nostro possesso non consentono di evidenziare informazioni su eventuali carenze alimentari, pertanto è opportuno prevedere un piano di monitoraggio sulla qualità del pascolo, che di fatto potrebbe essere determinante nella sopravvivenza degli individui più giovani.

Per ciò che concerne altre eventuali cause di mortalità, nonostante i limiti di indagine imposti dalla matrice biologica disponibile, sembra ragionevole escludere il ruolo di *Coxiella burnetii* e di *Pestivirus* all'interno della realtà studiata, sia per la bassa prevalenza rilevata nelle aree limitrofe, sia per l'azione patogena esplicita nella sfera riproduttiva, di cui peraltro è necessario indagare l'effettivo coinvolgimento. Il Virus Respiratorio Sinciziale, considerando l'elevata prevalenza riscontrata nelle aree limitrofe alla zona di studio, potrebbe avere rivestito un ruolo nella mortalità infantile dei camosci, tuttavia non disponendo di campioni di siero e/o di carcasse, non è stato possibile indagarne la presenza nelle popolazioni monitorate.

La complessità del quadro presentato necessita sicuramente un approfondimento delle indagini epidemiologiche, è pertanto auspicabile che vengano previsti dei piani di monitoraggio successivi per poter predisporre le eventuali misure correttive.

- Bibliografia -

- AA. VV. (2007). - *Valutazione e rilievi biometrici della fauna selvatica. Ungulati, galliformi alpini e lepre variabile*. Ed. IPLA - Osservatorio Regionale sulla fauna selvatica (Regione Piemonte).
- CACCIÒ S.M. (2004). - *New methods for the diagnosis of Cryptosporidium and Giardia*. *Parassitologia*. 46 (1-2): 151-155.
- CARNEVALI L., PEDROTTI L., RIGA F., TOSO S., (2009) - *Banca Dati Ungulati: Status, distribuzione, consistenza, gestione e prelievo venatorio delle popolazioni di Ungulati in Italia*. Rapporto 2001-2005. *Biol. Cons. Fauna*, 117:1-168 [Italian-English text].
- CASSINI R. (1996-1997). - *Studio delle comunità di coccidi e dinamica del rapporto ospite - parassita in una popolazione di camoscio alpino (R. r. rupicapra)*. Tesi di laurea, Università degli Studi di Padova.
- CASTRO-HERMIDA J.A., GARCIA-PRESEDO I., GONZALEZ-WARLETA M., MEZO M. (2011). - *Prevalence of Cryptosporidium and Giardia in roe deer (Capreolus capreolus) and wild boars (Sus scrofa) in Galicia (NW, Spain)*. *Veterinary Parasitology*, 179: 216-219.

- CITTERIO C.V., LUZZAGO C., SALA M., SIRONI G., GATTI P., GAFFURI A., LANFRANCHI P. (2003). – *Serological study of a population of alpine chamois (Rupicapra r. rupicapra) affected by an outbreak of respiratory disease*. The Veterinary Record, 153(19): 592-596.
- CRINGOLI G., RINALDI L., MAURELLI M.P., UTZINGER J. (2010). – *FLOTAC: new multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans*. Nature Protocols, 5(3): 503-515.
- DEMATTEIS A., GIOVO M., MENEGUZ P.G., TIZZANI P. (2010). – *Il prelievo venatorio delle femmine allattanti di camoscio alpino (Rupicapra rupicapra): effetti sul reclutamento giovanile e sulla dinamica di popolazione. Progetto di ricerca*. Comprensorio Alpino CATO1 - Valli Pellice, Chisone e Germanasca. Centro ricerche sulla gestione della fauna selvatica, fondazione universitaria.
- FERROGLIO E., GENNERO S., ROSSI L., TOLARI F. (2003) - *Monitoraggio di un focolaio di brucellosi nel camoscio alpino*. J. M. E. Journal of Mountain Ecology 7: 229-232.
- GAFFURI A., GIACOMETTI M., TRANQUILLO V.M., MAGNINO S., CORDIOLI P., LANFRANCHI P. (2006) - *Serosurvey of Roe Deer, Chamois and Domestic Sheep in the Central Italian Alps*. Journal of Wildlife Diseases, 42(3): 685-690.

- GIADINIS N.D., SYMEOUDAKIS S., PAPADOPOULOS E., LAFI S.Q., KARATZIAS H. (2012). – *Comparison of two techniques for diagnosis of cryptosporidiosis in diarrhoeic goat kids and lambs in Cyprus*. Tropical Animal Health and Production. 29 Feb 2012.
- GIBBS E.P.J., BVSc, PhD, FRCVS & ANDERSON T.C., DVM, MPH (2009) – “One world-One health” and the global challenge of epidemic diseases of viral aetiology. *Veterinaria Italiana*, 45(1): 35-44.
- HAMNES I.S., GJERDE B., ROBERTSON L., VIKOREN T., HANDELAND K. (2006). – *Prevalence of Cryptosporidium and Giardia in free ranging wild cervids in Norway*. *Veterinary Parasitology*, 141: 30-41.
- KATE E.J., NIKKITA G.P., LEVY M.A., STOREYGARD A., BALK D., GITTLEMAN J.L. (2008). – *Global trends in emerging infectious diseases nature*. *Nature*, 451/21: 990-994.
- MANFREDI M.T. (2010) – *Principali endoparassiti dell'allevamento caprino – Note scientifiche pratiche*. Comunità Montana Valli del Verbano.
- MARREROS N., FREY C.F., WILLISCH C.S., SIGNER C., RYSER-DEGIORGIS M.P. (2012) – *Coprological analyses on apparently healthy Alpine ibex (Capra ibex) from two Swiss colonies*. *Veterinary Parasitology*, 186: 382-389.

- MARTELLA D., POGLAYEN G., GENTILE L., MARI F., MARTINI M. (2003). - *Indagine sui coccidi presenti nel camoscio d'Abruzzo*. J. Mt. Ecol., 7 (Suppl.): 251-256.
- MUSTONI A., PEDROTTI L., ZANON E., TOSI G. (2002). - *Ungulati delle Alpi. Biologia – riconoscimento – gestione*. Nitida immagine editrice.
- OLE NIELSEN N. (1992) - *Ecosystem health and veterinary medicine*. Can Vet J. January; 33(1): 23–26.
- ORTEGA-MORA L. M., REQUEJO-FERNANDEZ J. A., PILAR-IZQUIERDO M., PEREIRA-BUENO J. (1999). – *Role of adult sheep in transmission of infection by Cryptosporidium parvum to lambs: confirmation of periparturients rise*. International journal for parasitology. 29: 1261-1268.
- ORTEGA-MORA L.M., GOTTSTEIN B., CONRATHS F.J., BUXTON D. (2007) - *Protozoal abortion in farm ruminants: guidelines for diagnosis and control*. Ed. CABI.
- PIOZ M., LOISON A., GAUTHIER D., GILBERT P., JULLIEN J.-M., ARTOIS M., GILOT-FROMONT E. (2004) - *Des infections bactériennes affectent le succès reproducteur des femelles de chamois (Rupicapra rupicapra)*. ONCFS Rapport scientifique: 81-85.
- PIOZ M., LOISON A., GAUTHIER D., GILBERT P., JULLIEN J.-M., ARTOIS M., GILOT-FROMONT E. (2008) – *Diseases and reproductive success in a wild mammal: example in the alpine chamois*. Oecologia 155: 691-704.

- PIOZ M., LOISON A., GIBERT P., DUBRAY D., MENAUT P., LE TALLEC B., ARTOIS M., GILOT-FROMONT E., (2007) – *Transmission of a pestivirus infection in a population of Pyrenean chamois*. *Veterinary Microbiology* 119: 19-30.
- PIRES TEIXEIRA W. F., DOURADO COELHO W. D., MARONI NUNES C., VASCONCELOS MEIRELES M. (2011) – *Detection of Cryptosporidium parvum oocysts in calf fecal sample by direct immunofluorescence assay*. *Rev. Bras. Parasitol. Vet., Jaboticabal*. 20 (4): 269-273.
- ROBERTSON L.J., FORBERG T., HERMANSEN I.S., GJERDE B. (2007). – *Giardia duodenalis cysts isolated from wild moose and reindeer in Norway: genetic characterization by PCR-RFLP and sequence analysis at two genes*. *Journal of Wildlife Diseases*, 43(4): 576-585.
- SKERRETT H.E., HOLLAND C.V. (2000). – *Asymptomatic shedding of Cryptosporidium oocysts by red deer hinds and calves*. *Veterinary Parasitology*, 94: 239-246.
- URQUHART G.M., ARMOUR J., DUNCAN J.L., DUNN A.M., JENNINGS F.W. (1998). - *Parassitologia veterinaria*. Ed. UTET.
- VIGANO' R. (2009). – *Integrazione dei parametri parassitologici, metabolici e sierologici nella gestione degli ungulati selvatici alpini*. Tesi di dottorato, Università degli Studi di Milano.

- VIGANO' R., BORRETTI M. (2009). - *Piano di programmazione per la gestione degli ungulati selvatici ruminanti 2009/2013*. Comprensorio Alpino VCO2 - Ossola Nord.
- VIGANO' R., LUZZAGO C., BESOZZI M., PISTONE D., BARDELLI M., LANFRANCHI P. (10-13 giugno 2010). - *Sieropositività per Coxiella burnetii in camosci e ovini in Val d'Ossola (Prov VB)*. 28èmes Rencontres du G.E.E.F.S.M., Rocchetta Nervina Imperia, 43.
- www.meteosvizzera.ch
- www.parcovegliadevero.it

- Allegati -

Allegato 1: Campioni totali raccolti, indicazione dello stato del campione e della zona di ritrovamento.

| NUMERO CAMPIONE | SPECIE | ETA' | DATA | STATO CAMPIONE | ZONA DI RITROVAMENTO | COORDINATE GPS |
|-----------------|----------|------|----------|----------------|----------------------|----------------|
| 1 | camoscio | A | 22/06/11 | fresche | Via dei camosci | 662653 130425 |
| 2 | camoscio | A | 22/06/11 | fresche | Via dei camosci | 662600 130500 |
| 3 | capriolo | P | 05/07/11 | secche | Via dei camosci | 662600 130500 |
| 4 | cervo | A | 05/07/11 | secche | Via dei camosci | 662600 130500 |
| 5 | camoscio | A | 05/07/11 | secche | Via dei camosci | 662600 130500 |
| 6 | camoscio | A | 05/07/11 | fresche | Via dei camosci | 662457 130473 |
| 7 | camoscio | P | 05/07/11 | secche | Via dei camosci | 662457 130473 |
| 8 | camoscio | A | 05/07/11 | fresche | Via dei camosci | 662457 130473 |
| 9 | camoscio | P | 05/07/11 | fresche | Via dei camosci | 662457 130473 |
| 10 | camoscio | P | 05/07/11 | fresche | Via dei camosci | 662607 130552 |
| 11 | cervo | A | 05/07/11 | secche | Via dei camosci | 662607 130552 |
| 12 | camoscio | A | 05/07/11 | secche | Via dei camosci | 662607 130552 |
| 13 | camoscio | P | 05/07/11 | fresche | Via dei camosci | 662607 130552 |
| 14 | camoscio | A | 05/07/11 | fresche | Via dei camosci | 662670 130547 |
| 15 | Indet. | A | 05/07/11 | secche | Via dei camosci | 662670 130547 |
| 16 | camoscio | A | 05/07/11 | fresche | Via dei camosci | 662670 130547 |
| 17 | cervo | P | 05/07/11 | fresche | Via dei camosci | 662670 130547 |
| 18 | camoscio | A | 05/07/11 | secche | Via dei camosci | 662670 130547 |
| 19 | camoscio | A | 05/07/11 | fresche | Via dei camosci | 662670 130547 |

| NUMERO CAMPIONE | SPECIE | ETA' | DATA | STATO CAMPIONE | ZONA DI RITROVAMENTO | COORDINATE GPS |
|-----------------|----------|------|----------|----------------|----------------------|----------------|
| 20 | cervo | P | 22/07/11 | fresche | Codelago | ND |
| 21 | cervo | P | 22/07/11 | fresche | Codelago | ND |
| 22 | camoscio | P | 22/07/11 | secche | Via dei camosci | ND |
| 23 | cervo | P | 22/07/11 | fresche | Via dei camosci | ND |
| 24 | Indet. | P | 22/07/11 | fresche | Via dei camosci | ND |
| 25 | camoscio | A | 22/07/11 | fresche | Via dei camosci | ND |
| 26 | camoscio | P | 22/07/11 | secche | Via dei camosci | ND |
| 27 | camoscio | A | 22/07/11 | secche | Via dei camosci | ND |
| 28 | camoscio | A | 18/08/11 | secche | Stange | 663982 130950 |
| 29 | Indet. | A | 18/08/11 | secche | Stange | 663909 130987 |
| 30 | camoscio | P | 18/08/11 | fresche | Stange | 663811 131064 |
| 31 | camoscio | P | 18/08/11 | fresche | Stange | 663811 131064 |
| 32 | capriolo | P | 18/08/11 | fresche | Stange | 663811 131064 |
| 33 | capriolo | P | 18/08/11 | fresche | Stange | 663811 131064 |
| 34 | camoscio | P | 18/08/11 | secche | Stange | 663811 131064 |
| 35 | capriolo | P | 18/08/11 | fresche | Stange | 663811 131064 |
| 36 | camoscio | A | 18/08/11 | secche | Stange | 663811 131064 |
| 37 | camoscio | A | 18/08/11 | secche | Stange | 663811 131064 |
| 38 | cervo | A | 18/08/11 | secche | Stange | 663892 131094 |
| 39 | camoscio | P | 18/08/11 | secche | Stange | 663957 131080 |
| 40 | camoscio | P | 19/08/11 | fresche | Stange | 663448 130976 |
| 41 | camoscio | P | 19/08/11 | fresche | Stange | 663498 131079 |
| 42 | capriolo | P | 19/08/11 | fresche | Stange | 663498 131079 |

| NUMERO CAMPIONE | SPECIE | ETA' | DATA | STATO CAMPIONE | ZONA DI RITROVAMENTO | COORDINATE GPS |
|--------------------|----------|------|----------|-------------------|-------------------------|-------------------|
| 43 | camoscio | P | 19/08/11 | fresche | Stange | 663498 131079 |
| 44 | camoscio | P | 20/08/11 | fresche | Piani della Rossa | 662376 131369 |
| 45 | camoscio | P | 20/08/11 | fresche | Piani della Rossa | 662376 131369 |
| 46 | cervo | A | 20/08/11 | fresche | Piani della Rossa | 662376 131369 |
| 47 | cervo | A | 20/08/11 | fresche | Piani della Rossa | 662376 131369 |
| 48 | camoscio | P | 20/08/11 | fresche | Piani della Rossa | 662376 131369 |
| 50 | capriolo | P | 12/10/11 | fresche | Stange | 663520 130925 |
| 51 | camoscio | P | 12/10/11 | secche | Piani della Rossa | 663000 131700 |
| 52 | camoscio | A | 13/10/11 | fresche | Stange | 664330 131200 |
| 53 | cervo | A | 13/10/11 | fresche | Stange | 664330 131200 |
| 54 | camoscio | P | 13/10/11 | fresche | Stange | 664330 131200 |
| 55 | cervo | A | 13/10/11 | fresche | Stange | 664330 131200 |
| 56 | cervo | A | 13/10/11 | fresche | Stange | 664330 131200 |
| 57 | camoscio | A | 13/10/11 | fresche | Stange | 664330 131200 |
| 58 | camoscio | P | 13/10/11 | fresche | Stange | 664330 131200 |
| 59 | camoscio | A | 13/10/11 | secche | Stange | 664330 131200 |
| 60 | camoscio | A | 13/10/11 | secche | Stange | 664330 131200 |
| 61 | camoscio | A | 13/10/11 | secche | Stange | 664330 131200 |
| 62 | camoscio | A | 13/10/11 | fresche | Stange | 664330 131200 |
| 63 | camoscio | P | 13/10/11 | fresche | Stange | 664330 131200 |
| 64 | Indet. | A | 13/10/11 | secche | Stange | 664330 131200 |
| 65 | capriolo | P | 13/10/11 | fresche | Stange | 664330 131200 |
| 66 | camoscio | P | 13/10/11 | secche | Stange | 664330 131200 |

| NUMERO CAMPIONE | SPECIE | ETA' | DATA | STATO CAMPIONE | ZONA DI RITROVAMENTO | COORDINATE GPS |
|-----------------|----------|------|----------|----------------|----------------------|----------------|
| 67 | camoscio | P | 13/10/11 | fresche | Stange | 664330 131200 |
| 68 | cervo | A | 13/10/11 | secche | Stange | 664330 131200 |
| 69 | camoscio | A | 13/10/11 | secche | Stange | 664330 131200 |
| 70 | cervo | A | 13/10/11 | fresche | Stange | 664330 131200 |
| 71 | camoscio | P | 13/10/11 | secche | Stange | 664330 131200 |
| 72 | Indet. | A | 14/10/11 | fresche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 73 | cervo | P | 14/10/11 | fresche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 74 | Indet. | A | 14/10/11 | secche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 75 | cervo | A | 14/10/11 | secche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 76 | Indet. | A | 14/10/11 | fresche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 77 | Indet. | A | 14/10/11 | fresche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 78 | cervo | A | 14/10/11 | fresche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 79 | Indet. | P | 14/10/11 | fresche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 80 | Indet. | A | 14/10/11 | secche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 81 | camoscio | P | 14/10/11 | fresche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 82 | Indet. | A | 14/10/11 | fresche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 83 | camoscio | A | 14/10/11 | fresche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 84 | camoscio | A | 14/10/11 | fresche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 85 | Indet. | A | 14/10/11 | fresche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 86 | cervo | A | 14/10/11 | secche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 87 | Indet. | A | 14/10/11 | secche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 88 | camoscio | P | 14/10/11 | fresche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 89 | camoscio | A | 14/10/11 | fresche | Val Buscagna | 662000 129700 |

| NUMERO CAMPIONE | SPECIE | ETA' | DATA | STATO CAMPIONE | ZONA DI RITROVAMENTO | COORDINATE GPS |
|-----------------|----------|------|----------|----------------|----------------------|----------------|
| 90 | camoscio | A | 14/10/11 | fresche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 91 | camoscio | P | 14/10/11 | secche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 92 | cervo | A | 14/10/11 | secche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 93 | Indet. | A | 14/10/11 | fresche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 94 | cervo | A | 14/10/11 | fresche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 95 | cervo | A | 14/10/11 | secche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 96 | Indet. | A | 14/10/11 | fresche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 97 | camoscio | A | 14/10/11 | fresche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 98 | camoscio | P | 14/10/11 | fresche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 99 | Indet. | A | 14/10/11 | fresche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 100 | camoscio | A | 14/10/11 | secche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 101 | camoscio | P | 14/10/11 | fresche | Val Buscagna | 662000 129700 |
| 102 | camoscio | A | 14/11/11 | fresche | Via dei camosci | 662925 130730 |
| 103 | capriolo | A | 14/11/11 | fresche | Via dei camosci | 662925 130730 |
| 104 | camoscio | A | 14/11/11 | secche | Via dei camosci | 662925 130730 |
| 105 | cervo | A | 14/11/11 | fresche | Via dei camosci | 662925 130730 |
| 106 | cervo | A | 14/11/11 | fresche | Via dei camosci | 662925 130730 |
| 107 | cervo | A | 14/11/11 | fresche | Via dei camosci | 662925 130730 |
| 108 | camoscio | A | 14/11/11 | fresche | Via dei camosci | 662925 130730 |
| 109 | capriolo | P | 14/11/11 | fresche | Via dei camosci | 662925 130730 |
| 110 | cervo | A | 14/11/11 | fresche | Via dei camosci | 662925 130730 |
| 111 | camoscio | A | 14/11/11 | secche | Via dei camosci | 662925 130730 |
| 112 | camoscio | P | 14/11/11 | fresche | Via dei camosci | 662925 130730 |

| NUMERO CAMPIONE | SPECIE | ETA' | DATA | STATO CAMPIONE | ZONA DI RITROVAMENTO | COORDINATE GPS |
|-----------------|----------|------|----------|----------------|----------------------|----------------|
| 113 | camoscio | A | 14/11/11 | fresche | Via dei camosci | 662925 130730 |
| 114 | camoscio | A | 14/11/11 | fresche | Via dei camosci | 662925 130730 |
| 115 | camoscio | P | 14/11/11 | fresche | Via dei camosci | 662925 130730 |
| 116 | camoscio | P | 14/11/11 | secche | Via dei camosci | 662925 130730 |
| 117 | camoscio | P | 14/11/11 | fresche | Via dei camosci | 662925 130730 |
| 118 | camoscio | A | 14/11/11 | fresche | Via dei camosci | 662925 130730 |
| 119 | camoscio | P | 15/11/11 | fresche | Codelago | 664760 131910 |
| 120 | camoscio | P | 15/11/11 | secche | Codelago | 664760 131910 |
| 121 | camoscio | P | 15/11/11 | fresche | Codelago | 664760 131910 |
| 122 | camoscio | P | 15/11/11 | fresche | Codelago | 664760 131910 |
| 123 | capriolo | P | 15/11/11 | fresche | Codelago | 664760 131910 |
| 124 | camoscio | P | 15/11/11 | fresche | Codelago | 664760 131910 |
| 125 | capriolo | A | 15/11/11 | secche | Codelago | 664760 131910 |
| 126 | camoscio | P | 15/11/11 | secche | Codelago | 664760 131910 |
| 127 | camoscio | P | 15/11/11 | secche | Codelago | 664760 131910 |
| 128 | capriolo | P | 15/11/11 | secche | Codelago | 664760 131910 |

- Ringraziamenti -

Il mio primo grande ringraziamento va al Prof. Paolo Lanfranchi, per avermi dato la possibilità di lavorare a questo progetto; grazie per le competenze e l'entusiasmo che ha saputo trasmettermi.

Ringrazio il Dott. Roberto Viganò per avermi accompagnato lungo tutto questo percorso (dalle prime uscite sul campo alle ultime ore davanti al pc), mettendo a disposizione il suo tempo e le sue conoscenze ogni volta che ne ho avuto bisogno. Il suo contributo è stato per me fondamentale, non solo sul piano lavorativo.

Ringrazio il Parco Naturale Alpe Veglia-Alpe Devero e i Guardiaparco per il supporto logistico e le attività di censimento svolte insieme. Un ringraziamento particolare al Dott. Radames Bionda che ha seguito tutto il progetto, per la sua estrema disponibilità e per tutto ciò che mi ha insegnato.

Ringrazio l'Azienda Enel per aver messo a disposizione i dati meteorologici della centralina di Codelago.

Un grazie alla Dott.ssa Cristina Fraquelli e al Dott. Sergio Zanzani che mi hanno seguito con estrema disponibilità e competenza nelle analisi di laboratorio. Grazie in generale a tutti gli "abitanti" del laboratorio di parassitologia per aver reso sempre piacevoli le ore passate a fare le analisi.

Ringrazio i miei genitori, Teresa e Giovanni, per il loro smisurato affetto e per avermi sostenuto in tutti questi anni, incoraggiandomi a dare sempre il meglio. Se non fosse stato per voi non sarei mai riuscita ad arrivare fin qui. Grazie.

Ringrazio Arianna (il mio pensiero felice), Giuseppe, ma soprattutto Elena che, oltre ad essere una grande sorella, è per me una straordinaria Amica. Grazie per essermi stata sempre vicino, per aver gioito con me e confortato nel momento del bisogno.

Grazie ad Alice e Federica per aver reso belli questi ultimi anni di università, grazie per le risate, per i momenti spensierati passati insieme e per la vostra Amicizia. Un grazie speciale ad Alessandra, per una marea di cose, ma soprattutto per essersi trasformata da compagna di studi ad Amica insostituibile.

Ringrazio la Dott.ssa Elena Jommi per avermi accolto in ambulatorio, per i consigli e gli insegnamenti che ha saputo darmi. Grazie di cuore anche alla Dott.ssa Mara Scotti, ad Angela e Titti.

L'ultimo ringraziamento va ai miei Amici per il tifo che hanno fatto sempre per me: Vale per essere stato la mia voce amica (e per un elenco infinito di altre cose); Robi per la preziosa bussola e tutto ciò che mi hai insegnato e che rimarrà sempre con me; Martino per essermi stato vicino per gran parte di questo percorso; Stefano per le fughe in montagna e la caccia fotografica; Mino, Gisi e gli amici del Parco Nord; Paolo, Beppe e gli amici del "Quarto Krav"; Raf, Lily e gli amici del CRAS; Donatella e gli amici della Filarmonica.

Un grazie particolare a Francesca, Claudio, Sara, Fabio, Giuditta e Dario, siete unici. Ultime, sicuramente non per importanza, le mie amiche di sempre: Ambra, Manu e Vale, grazie per la vostra Amicizia... e per le 14 ore a caccia di camosci e marmotte!

Grazie a tutte le persone non menzionate che, in un modo o nell'altro, hanno contribuito al raggiungimento di questo obiettivo.