

MALATTIE INFETTIVE

INFLUENZA AVIARIA NELLE SPECIE SELVATICHE IN ITALIA: ECOLOGIA E ANALISI DEI FATTORI DI RISCHIO

Mauro Delogu

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale
Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Bologna, Ozzano Emilia (Bo)



I virus influenzali di tipo A

La filogenesi dei virus influenzali ha premiato evolutivamente la possibilità di possedere un genoma segmentato. Tale condizione, negli Orthomyxovirus di tipo A è caratterizzata dalla presenza di 8 segmenti liberi di RNA lineare a singola elica e a polarità negativa. Questo elemento condiziona grandemente le potenzialità adattative che tali virus manifestano quale risposta alla pressione selettiva, sia attraverso meccanismi di mutazione spontanea, sia attraverso la possibilità di riassortimento genetico in concomitanza di situazioni di coinfezione.

In questo senso gli aspetti microevolutivi del virus (evoluzione pluridirezionale) offrono allo stesso notevoli capacità adattative esplicabili istantaneamente nel microtempo con il susseguirsi delle generazioni virali (Dale H.C. e Moore J., 1997). Si tratta infatti degli organismi (virus a RNA) che esprimono la massima capacità di mutazione, rapportati agli altri esseri viventi (una mutazione per genoma per replicazione, fino a 100.000 copie virali in 10 ore, 10¹² particelle virali in un organismo infetto; (Moja A. *et al.*, 2004)) (Figura 1).

Tale potenzialità di mutazione inserita nel tempo evolutivo dell'ospite

(macrotempo) si traduce in un vantaggio evolutivo del virus sullo stesso. Solamente nel macrotempo quindi si raggiunge quell'equilibrio che prende il nome di coevoluzione adattativa, elemento portante nel determinare il ruolo epidemiologico delle diverse specie (Guan Y. *et al.*, 2002). Tra gli elementi condizionanti la capacità di infettare e di ammalare singole specie delle quasi 400 costituenti l'avifauna italiana, alcuni sono di pertinenza del virus (presenza di amminoacidi basici nel sito di clivaggio dell'emoagglutinina, variazione dei siti di glicosilazione) altri della specie ospite (proteasi che favoriscono il clivaggio dell'HA; pH acido che consente attraverso modificazioni steriche l'apertura dell'endosoma cui segue la replicazione virale). La distribuzione tissutale dei recettori sialici di adesione, delle proteasi e le diverse condizioni di pH nei parenchimi definiscono sia il tropismo del virus sia la capacità dello stesso di infettare o meno con diversa gravità, le diverse specie aviarie selvatiche e domestiche. Ciò sta alla base del determinismo dello spettro d'ospite e quindi del ruolo epidemiologico delle diverse specie selvatiche nella diffusione o nel mantenimento dell'agente eziologico (Wobeser G.A., 1994).

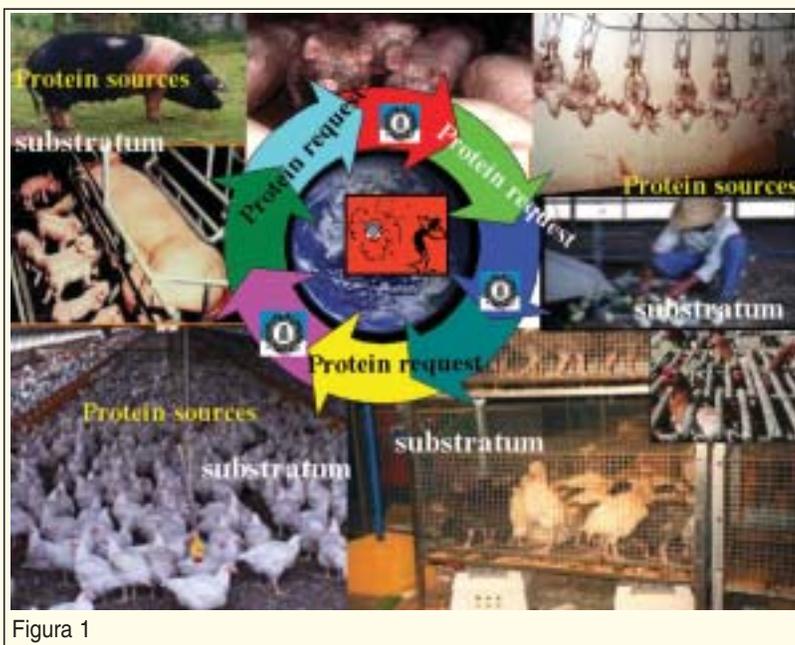


Figura 1

Stallknecht e Shane (1988) riportano un accurato resoconto, elaborato dai dati riferiti agli isolamenti virali su specie selvatiche a vita libera. Tale lavoro coinvolgeva 88 specie, suddivise in 22 Famiglie e 12 Ordini: Gaviformi, Podicipediformi, Procellariiformi, Pelecaniformi, Ciconiformi, Anseriformi, Galliformi, Columbiformi, Gruiformi, Caradriiformi, Piciformi, Passeriformi.

La percentuale complessiva di isolamento è risultata pari al 10,9% (2317 virus influenzali isolati da 21.318 uccelli) anche se va segnalato che ben 2173 virus provenivano da 14.303 Anseriformi selvatici. In questi ultimi, la percentuale risultava essere pari al 15,2% seguita dai Passeriformi con 2,9% e dai Caradriiformi con il 2,2% (Stallknecht D.E. and Shane S.M., 1988).

I dati sovraesposti, ulteriormente supportati dalla letteratura, rendono evidente come gli Anseriformi possiedano un ruolo di primo piano nell'ecologia della malattia (Webster R.G. *et al.*, 1992).

Il serbatoio selvatico (*reservoirs*)

Se dalle specie aviarie originano tutti i sottotipi H (H1/H16) (Fouchier R. A. *et al.*, 2005) e N (N1/N9), è probabilmente negli Anseriformi che il virus ha trovato il serbatoio epidemiologico. Tale gruppo origina filogeneticamente tra i 40/25 milioni di anni fa (Oligocene), anche se la speciazione nelle forme attuali è riferibile al Miocene, in un'epoca compresa tra i 10 ed i 7 milioni di anni fa (Chelini A., 1984). In questo Ordine zoologico il virus ha avuto modo di coevolvere, raggiungendo una condizione vicina alla stasi evolutiva, stato che nell'ospite anseriforme si esprime attraverso una quasi totale attenuazione della patogenicità e una ridotta frequenza di drift (virus stabili).

In tempi successivi i virus influenzali hanno esteso lo spettro

d'ospite ad altri gruppi aviari, esprimendo a volte patogenicità elevate (A/Tern/South Africa/1961, H5N3).

Ulteriori frontiere si sono aperte per il virus con la possibilità, spesso mediata dal suino quale mixing pot, di utilizzare come ospite anche i mammiferi quali il cavallo (H7N7, H3N8), il cane (H3N8), i felidi (H5N1) il furetto (H10N4), le foche (H7N7, H4N5) o l'uomo H1N1, H2N2, H3N2) (Horimoto T. and Kawaoka Y., 2001; Webster R.G. *et al.*, 1992) (Figura 2).

In epoca recente, si è potuto constatare come virus aviari siano in grado di infettare e a volte ammalare l'uomo direttamente (H5N1, H9N2, H7N7) (Donatelli I. *et al.*, 2003).

Tra le specie aviarie a vita libera, gli Anseriformi rappresentano il serbatoio dell'agente eziologico, ovvero il gruppo in cui questo virus si perpetua nel tempo.

Le caratteristiche etologiche quali l'elevata tendenza all'aggregazione, la possibilità di eseguire migrazioni nonchè un'intima interazione con l'ambiente acquatico ne fanno un ospite ideale.

La replicazione virale avviene in queste specie principalmente nel tratto intestinale e l'eliminazione è limitata a un periodo compreso mediamente tra le 2 e le 4 settimane.

In Europa, l'Ordine è rappresentato da circa 13/15.000.000 di individui, distribuiti per classi d'età in un rapporto 1:1 tra giovani ed adulti. La *sex ratio* nelle diverse specie è quasi sempre leggermente a favore dei maschi, mentre la popolazione è soggetta a un ricambio annuo del 50% degli individui per compensarne la mortalità.

In Europa (Paleartico) le specie che con diversa importanza svolgono il ruolo di serbatoio per i virus influenzali appartengono principalmente alla famiglia *Anatinae*. Le diverse distribuzioni, che le singole specie componenti la Famiglia presentano, sono spesso condizionate sia dalla presenza di habitat sia dalla diversa localizzazione dei quartieri di riproduzione (Nord/Est) e di svernamento (Sud/Ovest). Le anatre selvatiche migrano per diverse necessità biologiche, che ne condizionano la sopravvivenza e che sono variabili da specie a specie e da popolazione a popolazione all'interno di ciascuna specie. Il raggiungimento dei territori alternativamente impiegati avviene attraverso movimenti di migrazione stagionale con movimenti di discesa, alla ricerca di aree a clima mite in tarda estate ed autunno (verso le aree meridionali dell'emisfero boreale) e di risalita verso le aree di riproduzione in tardo inverno ed inizio primavera (aree settentrionali, post-disgelo).

Nel primo caso, dopo una prima parziale migrazione verso le aree in cui avviene la muta delle remiganti, la popolazione riproduttiva migra verso sud, accompagnata dai soggetti giovani nati nell'anno, mentre nella migrazione di risalita tutto il contingente è costituito da individui potenzialmente riproduttivi. Tale dato risulta di particolare rilievo alla luce

del fatto che è la popolazione giovanile a consentire la ciclicità dell'infezione influenzale.

La fase di discesa è caratterizzata da un flusso più lento rispetto alla più veloce risalita con soste protratte nei siti idonei (Delogu M. *et al.*, 2003).

Le popolazioni di anatidi del Paleartico, sono in ultimo "parzialmente migratrici" con una componente sedentaria e una migratrice in quasi tutte le specie, con eccezione della Marzaiola e della Pesciaiola (*Mergus albellus*) quasi totalmente migratrici e della Casarca, del Gobbo rugginoso e dell'Anatra marmorizzata, sedentarie (Chelini A., 1984).

Le vie di migrazione impiegate dagli anseriformi durante l'autunno nell'attraversamento del Paleartico Occidentale sono molteplici. Tra queste troviamo quella passante su Svezia-Francia-Gibilterra-Africa, quella su Finlandia-Olanda-Italia Nord Occidentale-Sardegna-Africa, quella che dal Centro Europa attraversa i Balcani, il Sud Italia e passando per la Sicilia raggiunge il Nord Africa. Tra le rotte più orientali troviamo quelle che dall'Europa Centrale passano sui Balcani, sulla Grecia raggiungendo il Nord Africa, mentre una ulteriore attraversa il Centro Europa per sfiorare il Mar Nero, sorvolare la Turchia ed entrare in Africa Orientale. Eccezione fatta per le Marzaiole che svernano principalmente in Africa Centro/Occidentale compiendo una migrazione transahariana, tutte le altre specie utilizzano le zone umide del bacino del Mediterraneo come aree di svernamento (Scott D.A. and Rose P.M. 1996).

L'Italia funge sia da area di svernamento e di riproduzione per alcune specie (Germano reale) sia di solo svernamento per la maggior parte degli anatidi con coinvolgimento migratorio primaverile e autunnale. Le popolazioni svernanti in Italia sono di provenienza europea nord-orientale.

I censimenti che vengono effettuati annualmente nei quartieri invernali danno la consistenza totale della popolazione di anatidi del Paleartico oscillante tra i 13 e i 15 milioni di individui. Tra le specie maggiormente rappresentate in termini numerici, il Germano reale possiede la popolazione stimata in 5 milioni di individui dei quali 76.000/100.000 svernanti in Italia, seguita dall'Alzavola con 2,5 milioni di cui 1 nel bacino del Mediterraneo e 51.000 soggetti in Italia. Tra le altre specie, il Fischione sverna nel Paleartico con circa 1,5 milioni di soggetti di cui 1 milione nell'area mediterranea e 71.000 in Italia, il Codone con 1,3 milioni di capi e circa 200.000 nella regione Mediterranea, il Mestolone con 1 milione di animali di cui il 10% svernanti nel Mediterraneo e 20.000 in Italia. Il Moriglione sverna in Area Mediterranea con circa 750.000 soggetti di cui 43.000 in Italia, mentre sono circa 8.500 gli individui svernanti in Italia per la Moretta (Baccetti N. *et al.*, 2002; Chelini A., 1984; Rose P.M. and Scott D.A. 1997; Serra L. *et al.*, 1997). Le aree di svernamento presenti sul territorio italiano sono numerose e variano a seconda delle caratteristiche ecologiche delle specie. È comune per

le anatre tuffatrici svernare nei maggiori specchi d'acqua nazionali caratterizzati da acque profonde, mentre le anatre di superficie si concentrano prevalentemente in paludi dove siano presenti acque basse. I siti di svernamento sono spesso aree ad elevata produttività, in cui si concentrano numerosissimi individui appartenenti a diverse specie di anatidi, che per un periodo temporale condividono questi ambienti con una quantità eterogenea di altre specie ornitiche, a loro volta sia stanziali sia migratrici. Si vengono così a costituire aggregazioni omo- ed eterospecifiche, catalizzate dalla presenza di fattori ambientali favorevoli, quali principalmente la disponibilità trofica e l'assenza di disturbo venatorio. In questi contesti si creano delle situazioni particolarmente favorevoli per la possibile trasmissione di virus influenzali sia tra popolazioni allopatriche omospecifiche, sia in gruppi eterospecifici.

L'aggregazione autunno-invernale, inoltre, avviene in presenza dei soggetti giovani delle diverse specie, individui caratterizzati da una spiccata sensibilità all'agente eziologico (Delogu M. *et al.*, 2003).

La qualità dell'acqua, intesa come pH, salinità e temperatura può divenire un ulteriore elemento che facilita la persistenza del virus nell'ambiente (Stallknecht D.E. *et al.*, 1990a) e la sua assunzione attraverso la filtrazione, come elemento di ricerca alimentare o di abbeverata, espone all'assunzione dell'agente virale.

In chiave ecologica la profondità e il ricambio dell'acqua costituiscono due dei principali elementi di interazione tra ospite e agente eziologico.

In aree limitate la notevole densità dei soggetti in rapporto all'esiguità delle superfici d'acqua aumenta notevolmente la frequenza di contatto tra gli individui, con ulteriore agevolazione della diffusione del virus. Condizioni climatiche particolarmente sfavorevoli nel periodo invernale (ghiaccio)

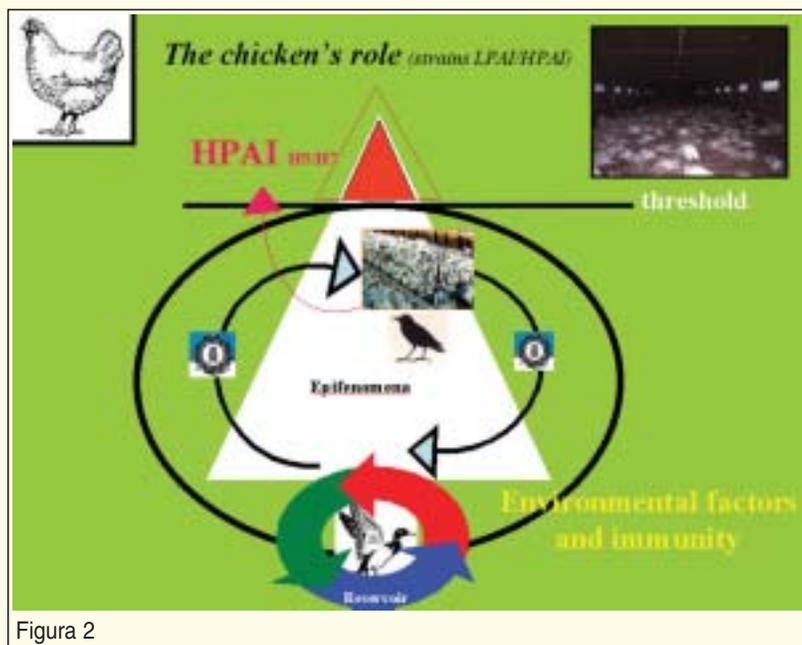


Figura 2

possono contribuire all'accentuazione delle interazioni. L'acqua va inoltre vista non solo come elemento di trasmissione dell'agente virale, ma anche di conservazione temporale dello stesso (Stallknecht D.E. *et al.*, 1990b), consentendo la trasmissione dell'infezione in assenza di contatto diretto tra gli individui.

Viene inoltre a determinarsi un'ulteriore potenzialità di trasmissione, mediante l'abbattimento di barriere etologiche tra specie diverse, tramite l'assunzione di acqua d'abbeverata (Delogu M. *et al.*, 2003).

Da quanto esposto si può osservare come il limite ecologico di interazione tra specie venga così facilmente superato e come sia facilitata la circolazione del virus sia nelle specie serbatoio sia negli epifenomeni. In realtà la modesta ospite-specificità dell'influenza trova in quanto detto tutta una serie di opportunità epidemiologiche. L'agente eziologico può trasmettersi attraverso l'acqua a una nutrita gamma di specie aviarie, in cui è in grado o meno di dare malattia.

La circolazione del virus nelle specie serbatoio è condizionata dal fatto che si tratti o meno di sottotipi normalmente presenti nella popolazione.

Nel caso in cui vi sia una parziale immunità del serbatoio, i virus percorrono due vie di perpetuazione; la prima si verifica in Italia tra agosto ed ottobre, periodo in cui la popolazione giovanile delle anatre (circa 50.000 Germani reali giovani all'anno) incontra l'agente eziologico nell'ambiente infettandosi e fungendo da volano di amplificazione, inducendo un aumento stagionale della pressione infettante del virus nell'ambiente.

Nel periodo invernale la presenza dei sottotipi endemici diviene meno evidente, spesso svelabile con difficoltà in una microcircolazione a bassissima pressione infettante in virtù della scarsissima eliminazione virale (De Marco M.A. *et al.*, 2003). Ben diversa è la situazione che si viene a creare qualora un

sottotipo immunitariamente sconosciuto alla popolazione selvatica entri nella stessa. In questo caso, l'infezione assume caratteristiche epidemiche ed il virus utilizza tutta la popolazione per replicarsi, senza distinzioni di classi di età. Il potenziale aumento alla replicazione incontra come unico limite reale la quantità numerica di ospiti recettivi e la loro possibilità di interazione: minime nel periodo riproduttivo e massime nel periodo di svernamento.

In questo caso tutta la popolazione funge da substrato e quindi da volano di amplificazione della pressione virale nell'ambiente.

Gli epifenomeni (non reservoirs)

In generale, molte delle oltre 400 specie ornitiche italiane, possono assumere il ruolo di epifenomeno (Stallknecht D.E. and Shane S.M., 1988), ovvero specie potenzialmente capaci di albergare e diffondere il virus per un periodo di tempo in genere limitato, ma non in grado di consentirne il mantenimento in natura. Il ruolo ecologico di tali specie nel ciclo epidemiologico dell'influenza aviaria è spesso oggetto di confusione.

L'infezione assume caratteristiche epidemiche, elemento che, in tempi variabili a seconda della densità, della frequenza di interazione individuali e di gruppo, si conclude con l'autoestinzione della malattia.

In Italia, nel corso di un monitoraggio permanente attivo sull'avifauna selvatica dal 1992 ad oggi, si è potuto osservare come la circolazione dei virus influenzali negli epifenomeni sia di gran lunga ridotta se paragonata a quella dei serbatoi (De Marco M.A. *et al.*, 2000; De Marco M.A. *et al.*, 2003a; De Marco M.A. *et al.*, 2003b).

L'indagine ha dimostrato come specie caratterizzate da migrazioni nell'Est Europa o in Sud Africa (Caradriformi – *Laridae*, *Sternidae*), specie di possibile interfaccia ecologica (Passeriformi di palude), specie di Galliformi stanziali (Fagiano) o migratori (Quaglia) caratterizzati da affinità filogenetica con il Pollo, Anatidi a svernamento sub-sahariano (Marzaiola) e specie consumatrici terziarie (rapaci diurni e notturni) evidenzino un'interazione con virus influenzali assente/modesta e svelabile solo sierologicamente (De Marco M.A. *et al.* 1999; De Marco M.A. *et al.* 2003a). Tra le ulteriori conseguenze che l'infezione degli epifenomeni comporta nell'epidemiologia dell'influenza aviaria, troviamo la minor stabilità del virus, con una più facile evoluzione pluridirezionale verso sottotipi ad alta patogenicità. Un ulteriore fattore di rischio è costituito dall'interazione epifenomeno selvatico e specie domestiche allevate. In questo caso, le specie selvatiche sinantropiche possono fungere da ponte di interconnessione (interfaccia ecologica) tra le due realtà, mettendo in contatto biocenosi altrimenti lontane e facilitando la circolazione del virus tra le stesse (Delogu M. *et al.*, 2003; De Marco M.A.,

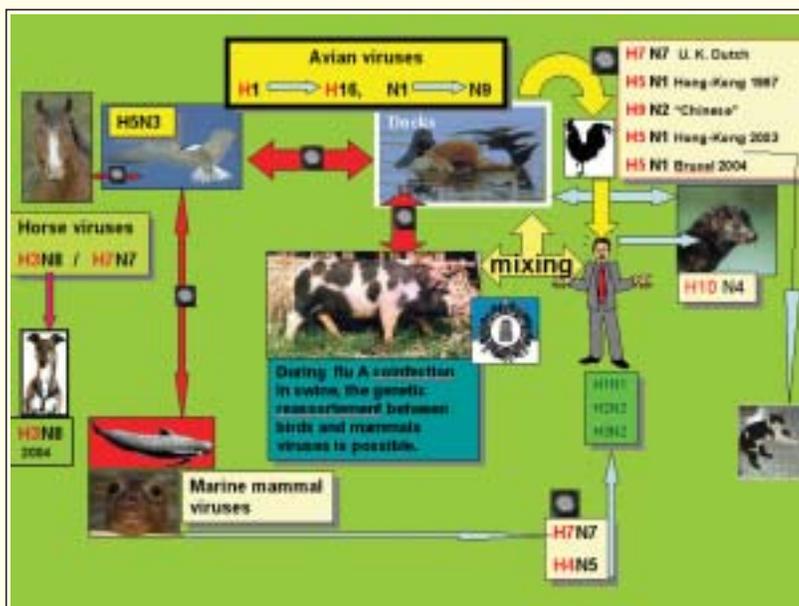


Figura 3

1998). Sovente queste interazioni necessitano di ulteriori fattori coadiuvanti, quali possono essere l'utilizzo di acqua contaminata dalle specie serbatoio.

Conclusioni

In base a quanto sopra esposto è possibile formulare alcune ipotesi sulle recenti epidemie da H7N3 e da H7N1 verificatesi nel pollame in Italia.

Il primo sottotipo infatti era presente nelle popolazioni selvatiche serbatoio già nell'ottobre 2001, con quasi un anno di anticipo sulla comparsa dei primi focolai nell'allevamento intensivo. Questo rappresenta il primo caso in cui si giunge all'isolamento di un virus influenzale prima nel serbatoio naturale e poi nell'ospite domestico. L'ingresso del virus negli allevamenti intensivi è stato dimostrato dalla mutazione adattativa che ha manifestato il precursore diretto (selvatico) legata al cambio d'ospite (domestico) (Campitelli L. *et al.*, 2004).

Il sottotipo H7 era assente virologicamente e sierologicamente in Italia nelle popolazioni selvatiche di uccelli acquatici dal 1992 sino al settembre 2000, quando comparvero le prime positività sierologiche per H7N1 nelle specie selvatiche serbatoio. Questo avvenne a un anno di distanza dall'epidemia da H7N1 che devastò l'allevamento intensivo italiano (De Marco M. A. *et al.*, 2005).

Analizzando i fattori di rischio, se osserviamo il panorama europeo e quello nazionale dal punto di vista dell'agente eziologico, vedremo come esistono specie potenziali serbatoi ed epifenomeni, sia domestiche sia selvatiche, e quali siano le entità dei rapporti tra le stesse.

In Europa la popolazione recettiva di individui giovani di specie serbatoio a vita libera non supera i 7,5 milioni con 50/60.000 individui in Italia.

Potenziali reservoir domestici

Nella sola Italia vengono allevate annualmente circa 7 milioni di anatre, di cui il 90% tra Lombardia e Veneto (dati UNA 2001) e tra queste circa 600.000 all'anno vengono reimmesse in natura per attività venatorie. Questo dato deve far riflettere, in quanto la popolazione domestica serbatoio potenzialmente recettiva è di circa 120 volte superiore a quella selvatica. Un ulteriore elemento di considerazione è dato dai 600.000 individui immessi all'anno in natura: rappresentano 10-12 volte la popolazione selvatica giovanile recettiva e una volta rilasciati forniscono al virus, infettandosi, un volano di amplificazione potenziale in grado di aumentare enormemente la pressione virale in natura e, attraverso questa, l'interazione virus/interfaccia ecologica/specie domestiche.

Potenziali ospiti non reservoir domestici

Un ultimo spunto di riflessione lo si può avere osservando i

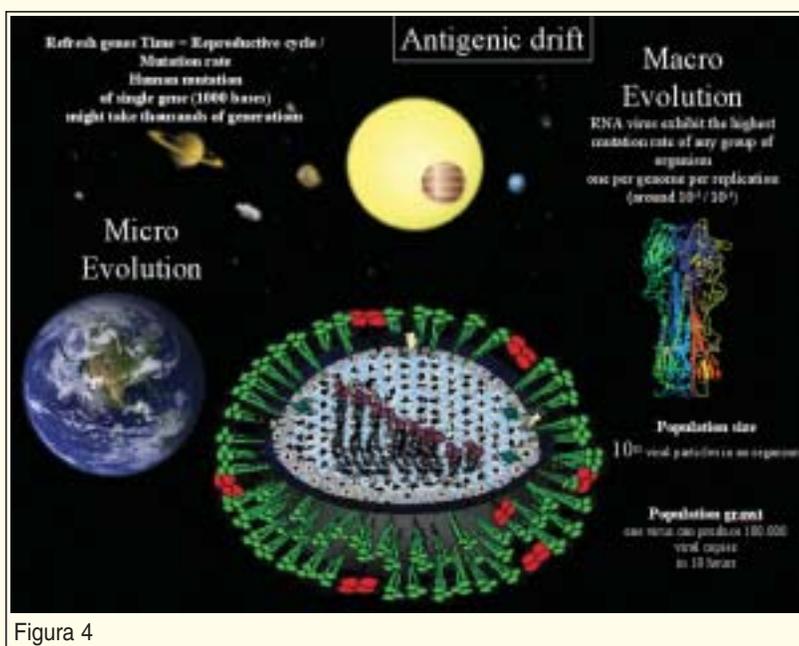


Figura 4

circa 4 miliardi di polli allevati all'anno in Europa, dei quali 560 milioni in Italia. Per un virus quale quello influenzale, essi costituiscono un substrato ideale, favorito dalla densità (elevata frequenza di contatti tra infetti e recettivi) e dalla omogeneità genetica che risparmia all'agente eziologico, una volta entrato, difficoltà di adattamento all'ospite. Ulteriore elemento a vantaggio dell'agente eziologico è che questo interagisce per tutto l'anno con un substrato continuamente rinnovato dalla rapidità dei cicli di produzione (si tratta di nuovi potenziali serbatoi non adattati?) (Campitelli L. *et al.*, 2002).

Tale condizione biologica evidenzia la necessità e l'importanza di una gestione attenta degli allevamenti e di una continua interazione tra mondo delle produzioni e mondo della sanità. Il virus incontra sempre un numero elevatissimo di individui recettivi, nel quale tende a percorrere tutte le strade evolutive, inclusa quella verso l'alta patogenicità (Figura 3), tale situazione si tradurrebbe per questo RNA virus in una sorta di acceleratore evolutivo che gli consente di sfruttare a proprio vantaggio le grandi popolazioni animali quali quella avicola, quella suina e quella umana così come avviene oggi nel caso dell'A H5N1 in Asia (Figura 4). L'individuazione delle strategie ecologiche di questa malattia si dimostra una pietra miliare nella comprensione della stessa e nella corretta gestione di quanto da essa determinato.

Ringraziamenti

Ringrazio vivamente tutto il gruppo di lavoro:

- Maria Alessandra De Marco: INFS, compagna di vita e di ricerca;
- Isabella Donatelli, Laura Campitelli, Maria Tollis, Livia Di Trani: Istituto Superiore di Sanità, Roma;
- Giuseppe Barigazzi, Emanuela Foni, Chiara Chiapponi,

Paolo Cordioli, Fausto Marzadori, Elisabetta Raffini, Giampaolo Tozzoli: Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna;

- Antonio Canu, Marco Carsughi, Luigi Calchetti: WWF Italia;

- Robert G. Webster: St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, Tennessee, USA.

Bibliografia

- 1 - Baccetti N., Dall'Antonia P., Magagnoli P., Melega L., Serra L., Soldatini C., Zenatello M, 2002. Risultati dei censimenti degli uccelli acquatici svernanti in Italia: distribuzione, stima e trend delle popolazioni nel 1991-2000. *Biologia e Conservazione della Fauna*, 111, 1-240.
- 2 - Chelini A., 1984. *Le Anatre Selvatiche*, (Editoriale Olimpia, Firenze), 1-383.
- 3 - Delogu M., De Marco M.A., Donatelli I., Campitelli L., Catelli E., 2003. Ecological aspects of influenza A virus circulation in wild birds of the Western palearctic. *Veterinary Research Communications* 27, Supplement 1, pp.101-106.
- 4 - Campitelli L., Mogavero E., De Marco M.A., Delogu M., Pulzelli S., Frezza F., Facchini M., Foni E., Cordioli P., Barigazzi G., Webster R.G., Donatelli., 2004- Influenza surveillance in birds in Italy (1999-2002): preliminary molecular characterization of virus isolates. Elsevier proceedings: International Congress Series 1263, pp. 766-770.
- 5 - Campitelli L., Fabiani C., Pulzelli S., Fioretti A., Foni E., De Marco M.A., Krauss S., Webster G.R., Donatelli I., 2001. H3N2 Influenza Viruses from domestic chickens in Italy: an increasing role of chickens in the ecology of influenza? *J. Gen. Virol.* 83: 413-420.
- 6 - Dale H.C. e Moore J., 1997. *Host Parasite evolution: general principles and avian model*, Oxford University Press, Oxford.
- 7 - De Marco M.A., 1998. Influenza: tutta colpa dei selvatici? *Rivista di Avicoltura*, LXVII (9), 47-53.
- 8 - De Marco M.A., Guberti V., Raffini E., Foni E., Delogu M. e Donatelli I., 1999. Influenza aviaria: indagini epidemiologiche in specie selvatiche. *La Selezione Veterinaria*, (12), 897-907.
- 9 - De Marco M.A., Guberti V., Foni E., Raffini E., Campitelli L., Barigazzi G., Delogu M. e Donatelli I., 2000. Waterfowl wintering in Italy: a Serological and Virological Survey for type A Influenza Viruses. In E. Brocchi e A. Lavazza (eds. in chief), *Proceedings of the 5th International Congress of the European Society for Veterinary Virology*, Brescia, 2000, 303-304.
- 10 - De Marco M.A., Foni E., Campitelli L., Raffini E., Delogu M., Donatelli I., 2003 a. Long-term monitoring for avian influenza viruses in wild bird species in Italy. *Veterinary Research Communications* 27, Supplement 1, pp.107-114.
- 11 - De Marco M. A., E. Foni, L. Campitelli, E. Raffini, L. Di Trani, M. Delogu, V. Guberti, G. Barigazzi e I. Donatelli, 2003 b. Circulation of influenza viruses in wild waterfowl wintering in Italy during the 1993-1999 period: evidence of virus shedding and seroconversion in wild ducks. *Avian Diseases* 47 : 861- 866.
- 12 - De Marco M. A., Foni E., Campitelli L., Delogu M., Raffini E., Chiapponi C., Barigazzi G. Cordioli P., Di Trani L., e I. Donatelli, 2005. Influenza virus circulation in wild ducks and coots in Italy during H5N2 and H7N3 poultry epidemic periods (1998- 1999). *Proceedings of the OIE / FAO International Scientific Conference on Avian Influenza*, Paris (France). pp.64
- 13 - Donatelli I., Puzelli S., Affinito C., Delogu M., De Marco M.A., 2003. Influenza viruses: structure and interspecies transmission mechanism. *Veterinary Research Communications* 27, Supplement 1, pp. 115-122.
- 14 - Fouchier R. A., Munster V., Wallensten A., Bestebroer T.M., Herfst S., Smith D., Rimmelzwaan G., Olsen B., Osterhaus A. D. M. E., 2005. Characterization of a Novel Influenza A Virus Hemagglutinin Subtype (H16) Obtained from Black-Headed Gulls. *Journal of Virology*, Vol. 79 No. 5 p.p.2814-2822.
- 15 - Guan Y., Peiris M., Kong K.F., Dyrting K.C., Ellis,T.M., Sit T., Zhang L.J. e Shortridge K.F., 2002. H5N1 influenza viruses isolated from geese in Southeastern China: evidence for genetic reassortment and interspecies transmission to ducks. *Virology*, 292, 16-23.
- 16 - Horimoto T. and Kawaoka Y., 2001. Pandemic Threat Posed by Avian Influenza A Viruses. *Clinical Microbiology Reviews*, 14 (1), 129-149.
- 17 - Moja A., Holmes C.E., Gonzalez Candelaz F., 2004. The population genetics and evolutionary epidemiology of RNA viruses. *Nature Reviews*, vol.2, 1-11.
- 18 - Rose P.M. and Scott D.A., 1997. *Waterfowl Population Estimates*. Wetlands International Publication No. 44, (Wetlands International, Wageningen, The Netherlands), 1-106.
- 19 - Scott D.A. and Rose P.M., 1996. *Atlas of Anatidae populations in Africa and Western Eurasia*. Wetlands International Publication No. 41, (Wetlands International, Wageningen, The Netherlands), 1-336.
- 20 - Serra L., Magnani A., Dall'Antonia P. e Baccetti N., 1997. Risultati dei censimenti degli uccelli acquatici svernanti in Italia, 1991-1995. *Biologia e Conservazione della Fauna*, 101,1-312.
- 21 - Stallknecht D.E., Kearney M.T., Shane S.M. and Zwank P.J., 1990a. Effects of pH, temperature, and salinity on persistence of avian influenza viruses in water. *Avian Diseases*, 34, 412-418.
- 22 - Stallknecht D.E. and Shane S.M. 1988. Host Range of Avian Influenza Virus in free-living birds. *Veterinary Research Communications*, 12, 125-141.
- 23 - Stallknecht D.E., Shane S.M, Kearney M.T. and Zwank P.J., 1990b. Persistence of avian influenza viruses in water. *Avian Diseases*, 34, 406-411.
- 24 - Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T., Chambers T.M. and Kawaoka Y. 1992. Evolution and Ecology of Influenza A Viruses. *Microbiological Reviews*, 56 (1), 152-179.
- 25 - Wobeser G.A., 1994. *Investigation and management of disease in wild animals*, Plenum Press, New York), 1-265.