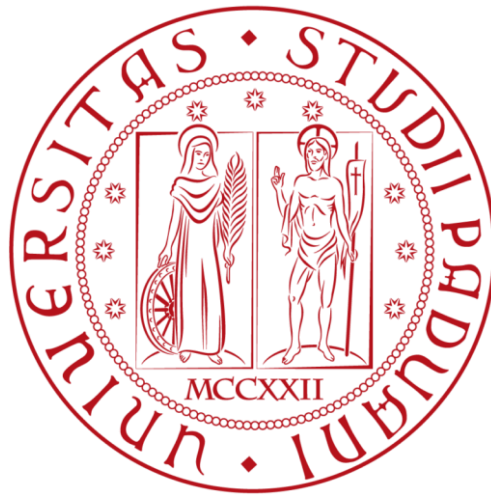


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA

Corso di Laurea in Biotecnologie



ELABORATO DI LAUREA

**Esame necroscopico e istopatologico di specie
aliene animali in Veneto: *Myocastor coypus***

Tutor: Prof. Laura Cavicchioli

Dipartimento di Biomedicina comparata e Alimentazione

Laureanda: Vittoria Zanotto

Anno accademico 2023-2024

ABSTRACT

L'elaborato di tesi ha lo scopo di chiarire l'iter diagnostico per l'esecuzione di indagini post-mortem su carcasse di nutria (*Myocastor coypus*) al fine di evidenziare la presenza di lesioni e patologie, anche potenzialmente trasmissibili ad altre specie animali del territorio o all'uomo, valutando l'impatto sull'ecosistema locale di specie animali aliene. Gli esemplari sono stati ottenuti tramite programmi di abbattimento stabiliti dalla regione Veneto, recuperati presso i comuni di Eraclea e Salzano; successivamente trasportati presso il Dipartimento di Biomedicina comparata e Alimentazione e subito sottoposti ad analisi. Gli animali sono stati sottoposti all'esame necroscopico per valutare le dinamiche traumatiche e il contesto macro-patologico, per poi procedere con l'isolamento di tessuti e organi per il loro campionamento. Una volta catalogati, i campioni sono stati trattati con formalina per la loro fissazione, per poi procedere all'operazione di trimming e preparazione dei blocchetti di paraffina per consentire l'assemblaggio dei vetrini istologici e concludere l'iter attraverso l'analisi micro-patologica.

Dalle analisi effettuate si evince come gli esemplari siano per lo più in uno stato globale di salute, forse come conseguenza del fatto che le carcasse sono state ottenute da un abbattimento casuale e non mirato a soggetti con segni di malattia.

INDICE

ABSTRACT.....	3
1. STATO DELL'ARTE.....	1
1.1. LE NUTRIE IN VENETO.....	1
1.2. CONTESTO E OBIETTIVI	2
2. APPROCCIO SPERIMENTALE	5
2.1. CAMPIONAMENTO	5
2.2. PROCEDURE NECROSCOPICHE.....	6
2.3. ESAME ISTOLOGICO	7
2.3.1. CONSERVAZIONE CAMPIONI	7
2.3.2. PREPARAZIONE DEI VETRINI.....	8
3. RISULTATI E DISCUSSIONI	11
3.1. RISULTATI MACROSCOPICI.....	11
3.2. RISULTATI MICROSCOPICI	12
3.3. DISCUSSIONE	13
BIBLIOGRAFIA	14

1. STATO DELL'ARTE

1.1. LE NUTRIE IN VENETO

La nutria (*Myocastor coypus*) è un roditore di media taglia tipico di ambienti acquatici originario del Sud America ed importato in Italia nel 1929 a scopo di allevamento commerciale per la produzione di pellicce, condotto in strutture di stabulazione spesso inadeguate che hanno facilitato ripetute immissioni nell'ambiente, più o meno accidentali, avvenute nel corso degli ultimi decenni che nel tempo hanno determinato la naturalizzazione della specie sull'intero territorio italiano. Negli anni questo roditore di origine esotica ha raggiunto nel nostro Paese consistenze elevate dovute sia alle caratteristiche tipiche della specie che alla mancanza di avversità naturali ivi compresa l'assenza di predatori. La nutria presenta infatti un incremento annuo sostenuto a causa dell'elevato tasso riproduttivo (circa 14 piccoli per femmina), delle nascite distribuite nell'intero corso dell'anno con picchi stagionali compresi tra maggio e novembre, del nostro favorevole clima caldo umido e della buona disponibilità alimentare. Inoltre, la mortalità naturale della nutria è provocata quasi unicamente da inverni freddi caratterizzati da temperature al di sotto degli 0 gradi per periodi di tempo prolungati, condizioni raramente riscontrabili in Italia. È una specie che possiede un'elevata capacità dispersiva e la presenza del fitto reticolo idrografico che caratterizza il territorio veneto ha facilitato, nel territorio regionale, l'incontrollata diffusione e l'aumento della consistenza della specie. Dalla metà degli anni 1990, in Veneto, al fine di mitigare l'impatto della specie sulle attività antropiche e con l'intento di limitarne la diffusione, sono stati attuati dalle Amministrazioni provinciali specifici piani di controllo ai sensi dell'art.19 della legge 157/92 e dell'art. 17 della L.R.n.50/93. Detti piani di controllo, come si rileva dai dati relativi alle produzioni agricole danneggiate più avanti riportati, hanno contribuito a contenere i danni. Nel 2014 la nutria da specie selvatica

gestibile ai sensi della Legge 157/92 è diventata un “animale infestante” al pari dei topi, delle talpe, delle arvicole e dei ratti propriamente detti¹.

1.2. CONTESTO E OBIETTIVI

L'abbattimento delle nutrie è normato a livello regionale dalla delibera della giunta regionale n. 1263 del 01 agosto 2016, “Piano regionale triennale di eradicazione della nutria (*Myocastor coypus*)” (articolo 2, comma1 della Legge regionale 26 maggio 2016, n.15). L’eradicazione si rende necessaria per motivi di impatto sulla biocenosi, danni alle produzioni agricole, rischi idraulici e rischi sanitari; in particolare, numerose sono le malattie a cui la nutria può andare soggetta (Cocchi e Riga, 2001). Analisi condotte tra il 1995 e il 1998 su 131 nutrie di provenienza veneta (Arcangeli et al., 2001) non hanno prodotto esiti positivi; sembra quindi che in Veneto la nutria non sia diffusore di pericolose zoonosi, come la Salmonellosi e la Trichinellosi. Anche per la Leptospirosi, nonostante la sieropositività di 38 individui su 99, la nutria non sembra essere un vettore importante di questo batterio (Bon, Mezzavilla e Scarton, 2013). A sostegno di quanto affermato, vi è la presenza di altri studi in letteratura che confermano come la nutria, non sia portatrice di Salmonellosi (nessun caso rilevato)²³, mentre tramite analisi sierologica, si è riscontrata la presenza di anticorpi per la specie *Leptospira interrogans*, insieme alla positività ai sierotipi *Bratislava* e *Icterohaemorrhagiae*. Confrontando la sierologia, il trasporto renale e l'eliminazione di leptospire nelle urine da nutrie e altri roditori, è stato dimostrato che le nutrie sono probabilmente portatrici di *Leptospira*, sebbene siano meno efficienti dei ratti muschiati (*Ondatra zibethicus*) e dei ratti (*Rattus norvegicus*) nel mantenere e diffondere l'infezione diffondendo

¹ ALLEGATO A alla Dgr n. 1263 del 01 agosto 2016, REGIONE DEL VENETO

² E. Bollo, P. Pregel, S. Gennero, E. Pizzoni, S. Rosati, P. Nebbia, B. Biolatti, Health status of a population of nutria (*Myocastor coypus*) living in a protected area in Italy, Research in Veterinary Science, Volume 75, Issue 1, 2003, Pages 21-25, ISSN 0034-5288, [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(03\)00035-3](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(03)00035-3).

(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034528803000353>)

³ Sergio A. Zanzani, Annarita Di Cerbo, Alessia L. Gazzonis, Sara Epis, Anna Invernizzi, Silvia Tagliabue, Maria T. Manfredi; Parasitic and Bacterial Infections of *Myocastor coypus* in a Metropolitan Area of Northwestern Italy. J Wildl Dis 1 January 2016; 52 (1): 126–130. doi: <https://doi.org/10.7589/2015-01-010>.

leptospire (Aviat et al. 2009; Vein et al. 2013)³. Altri studi, invece, hanno segnalato la presenza di *Toxoplasma gondii*, che può infettare tutti gli animali a sangue caldo ed è l'agente eziologico di un'importante zoonosi, la Toxoplasmosi. Una nutria infettata da *T. gondii* è una potenziale fonte di contagio per altri spazzini e l'infezione umana durante la gravidanza può essere estremamente pericolosa per il feto in quanto in grado potenzialmente di causare nei pazienti immunocompromessi encefaliti possibilmente fatali⁴. La toxoplasmosi è un'infezione comune sia nelle nutrie allevate in azienda che in quelle allevate all'aperto. Gli animali sottoposti a ceppi patogeni di *Toxoplasma* non sviluppano segni clinici riferibili; quindi, questa specie può essere considerata altamente resistente alla parassitosi. Contestualmente, le nutrie mostrano una risposta anticorpale rilevabile e specifica e potrebbero essere candidati putativi per monitorare il carico di oocisti di *T. gondii* nell'ambiente. È ben noto che *T. gondii* può essere diffuso attraverso il cibo e il suolo, e che l'acqua è stata implicata in focolai di Toxoplasmosi negli ultimi anni. Considerando che le nutrie sono animali che vivono nel confine tra l'habitat terrestre e quello acquatico, ciò le rende una specie altamente esposta al parassita. La possibilità che l'ingestione di acqua non trattata possa essere un fattore di rischio è stata valutata nell'epidemiologia di questa infezione, considerando che gran parte delle infezioni umane non può essere spiegata solamente dall'esposizione al cibo contaminato o al suolo⁵. Per il progetto di ricerca nel quale si inserisce questo elaborato, l'abbattimento diretto con arma da fuoco è stato effettuato da cacciatori mediante l'utilizzo di pallini atossici¹. Nello specifico, l'obiettivo del progetto verte su un carattere epidemiologico di ricerca di patogeni (virus, batteri funghi e parassiti) che possano potenzialmente infettare *Myocastor coypus*, aliena all'ecosistema italiano e in particolare veneto. Se si ottengono risultati, è necessario capire l'effetto dei patogeni locali in questi animali; che tipo di reazione sviluppano e se sviluppano malattia, punto fondamentale dove si va ad inserire proprio l'aspetto

⁴ Nicoletti A, Pregel P, Starvaggi Cucuzza L, Bollo E, Scaglione FE. Un aggiornamento sullo stato di salute di *Myocastor coypus* nel Nord Italia. *Animali (Basilea)*. 12 gennaio 2024; 14(2):245. DOI: 10.3390/ani14020245. PMID: 38254414; PMCID: PMC10812484.

⁵ Nardoni S, Angelici MC, Mugnaini L, Mancianti F. Prevalenza dell'infezione da *Toxoplasma gondii* in *Myocastor coypus* in una zona umida italiana protetta. *Vettori di parassiti*. 23 dicembre 2011; 4:240. DOI: 10.1186/1756-3305-4-240. PMID: 22196032; PMCID: PMC3262763.

anatomopatologico, con l'esame macroscopico e istologico. Allo stesso modo si cercano dei patogeni non autoctoni, quelli che derivano dall'areale di origine della specie.

2. APPROCCIO SPERIMENTALE

2.1. CAMPIONAMENTO

In relazione a quanto approfondito al punto 1.2, le nutrie sono state ottenute tramite il programma di abbattimento normato a livello regionale n. 1263 del 01 agosto 2016, ad opera di cacciatori iscritti che intervengono in qualità di operatori autorizzati. L'abbattimento ha seguito le linee guida descritte improntate al principio della selettività e al non provocare maltrattamento o inutili sofferenze agli animali tramite l'utilizzo di pallini atossici¹. Attraverso questo metodo, le cause di morte riscontrate sono rappresentate da una combinazione di trauma tissutale massivo e shock emorragico che avvengono in pochi minuti. L'abbattimento degli esemplari analizzati è avvenuto nel comune di Eraclea (VE), seguito dalla conservazione in refrigerazione, il recupero delle carcasse entro 48 ore e la successiva analisi durante le 12 ore seguenti.

Tabella 2.1. Esemplari inclusi nello studio analizzati per ID, età, sesso, peso e origine.

ID	ETÀ	SESSO	PESO (KG)	ORIGINE
Nutria 1	Adulto	F	4	Eraclea
Nutria 2	Adulto	M	6,1	Eraclea
Nutria 3	Adulto	M	2,3	Eraclea
Nutria 4	Adulto	F	5,8	Eraclea
Nutria 5	Adulto	F	4,8	Eraclea

2.2. PROCEDURE NECROSCOPICHE

La necropsia inizia con la rilevazione di dati come lunghezza, peso e sesso, i quali saranno necessari per la compilazione del referto necroscopico insieme ai risultati dell'esame esterno dell'animale. Negli esemplari analizzati, non sono stati evidenziati alcuni segni patologici esterni, di conseguenza si è proceduto con l'individuazione delle lesioni traumatiche, in particolar modo il punto di entrata e fuoriuscita del colpo. A seguito delle metodiche di abbattimento, si è potuto confermare che le cause di morte siano state una combinazione di trauma tissutale massivo e shock emorragico; in particolare, la penetrazione dei pallini ha causato danni estesi ad organi vitali, vasi sanguigni principali e tessuti molli, portando ad una perdita di sangue rapida e significativa. Ciò ha portato ad una considerevole riduzione del volume di sangue circolante traducendosi in una drastica caduta della pressione arteriosa compromettendo la perfusione di organi vitali come cervello e cuore, stimando la morte in una decina di minuti. In alcuni casi, il distretto corporeo colpito è stato molto significativo: esemplari con danni in corrispondenza di cuore, fegato, polmoni, cervello o spina dorsale, hanno riportato sicuramente un decesso più rapido nell'ordine di qualche secondo o minuto.

Il passaggio successivo consiste nello scuoiamento delle carcasse ed eviscerazione. La procedura necroscopica ha lo scopo di causare il minimo grado di danno a tessuti, organi o sistemi, in modo tale da permettere la loro ricomposizione e riassetto in caso di analisi più approfondite. L'animale viene posto supino e si procede con un'incisione iniziale alzando leggermente la pelliccia lungo la linea mediana ventrale, per poi proseguire fino alla gola e all'ano utilizzando un bisturi. Si continua sollevando la pelle e la pelliccia dai muscoli sottostanti, separandoli lungo i lati della carcassa e facendo attenzione a non danneggiare i tessuti al di sotto. Una volta rimossa tutta la pelle, si prosegue con l'incisione del peritoneo per aprire la cavità addominale ed esporre gli organi interni per poi completare la procedura con l'apertura della cavità toracica e recisione della trachea, concludendo con l'eviscerazione⁶. Gli organi vengono dunque visivamente analizzati macroscopicamente, sistemati sul tavolo da necropsia, fotografati, documentati

ed inseriti all'interno del referto necroscopico, per poi essere immersi e conservati in formalina tamponata al 10%.



Figura 2.1. Nutria 5. Si evidenziano nelle immagini i danni di tipo emorragico e l'entità del coagulo, comprendente l'intera cavità toracica.

2.3. ESAME ISTOLOGICO

2.3.1. CONSERVAZIONE CAMPIONI

I campioni ottenuti dalla necropsia sono conservati in una soluzione di formalina tamponata al 10% per permettere la loro fissazione: il processo inattiva l'attività autolitica degli enzimi nativi permettendo di mantenere integra la struttura interna del campione. La formalina è un composto organico volatile, tossico per contatto, inalazione o ingestione, irritante e potenzialmente cancerogeno, il quale può essere trattato solamente sotto cappa aspirante e con l'utilizzo di doppi guanti per evitare il contatto prolungato che potrebbe danneggiare il materiale dei dispositivi

personali di sicurezza. I campioni vengono inseriti all'interno di contenitori a chiusura ermetica, immersi in un volume di formalina pari a 10 volte il loro volume.

2.3.2. PREPARAZIONE DEI VETRINI

I campioni, una volta fissati, passano alla fase di trimming, che consente di ottenere delle sezioni rappresentative per l'analisi microscopica. Il processo prevede il taglio netto secondo linee specifiche effettuato seguendo protocolli standardizzati per ciascun organo o tessuto. Una volta ottenute le sezioni di interesse, si pongono all'interno di biocassette con il lato da analizzare rivolto verso il basso, nominandole con un codice alfanumerico che consente l'identificazione dell'organo o tessuto e il numero di sezioni ottenute dal campione. Queste vengono poi poste all'interno di un processatore con lo scopo di eliminare l'acqua e la formalina dai campioni per sostituirla con la paraffina. Attraverso operazioni cicliche di passaggi in soluzioni di alcol etilico a concentrazione crescente (50-75-100%) per poi concludere con lo xilene, sostanza diafanizzante, si riesce ad ottenere un campione completamente disidratato, compatibile così con la paraffina; questo procedimento è di fondamentale importanza in quanto quest'ultima, avendo caratteristiche altamente idrofobe, non riuscirebbe a penetrare e stabilizzarsi in presenza di acqua o sue soluzioni. Il processo dura 15 ore. Si procede con l'inclusione totale della biocassetta contenente il campione in paraffina, la quale è liquida ad una temperatura di lavorazione di 65°C e si solidifica, in base alla percentuale di olio presente, tra i 60 e 44°C. Le biocassette vengono aperte e private del lato richiudibile; si procede col prendere degli stampi di metallo della dimensione del campione, riempirli di paraffina liquida, posizionare al centro la/le sezione/i del campione e fissarle con un breve passaggio su piastra fredda *Bio optica pf 100* a 0°C, per poi far aderire la biocassetta sopra allo stampo e riempirlo di nuovo con paraffina liquida, riponendolo in fine su una piastra raffreddata attorno a -7-8°C.

Una volta completamente solidificato e rimossa la paraffina in eccesso presente sui lati, il blocchetto è pronto per essere sgrossato, operazione che permette di rimuovere i primi strati di paraffina per far emergere il campione incluso; i

blocchetti sono così pronti per il taglio al microtomo, strumento che consente di ottenere sottili foglietti di paraffina con uno spessore di 3-5µm. Questi sono adagiati sul vetrino portaoggetti tramite due passaggi, prima in acqua a 25°C circa e successivamente in acqua distillata a 60°C, temperatura che essendo vicina a quella di fusione della paraffina, permette al foglietto di distendersi completamente evitando la formazione di pieghe. I vetrini devono sostare per un minimo di 30 minuti in stufa a 70°C per permettere l'adesione completa del campione al vetrino e lo scioglimento della paraffina in eccesso prima di poter procedere con la colorazione di interesse.

I vetrini dello studio sono stati colorati con ematossilina e eosina attraverso il coloratore automatico *Leica autostainer xl* che consente di automatizzare le seguenti fasi:

- Sparaffinatura: per togliere completamente la paraffina, si effettuano due passaggi in xilolo ognuno per 2 minuti;
- Idratazione: serve per preparare il vetrino alla colorazione, la quale è in soluzione. Prevede brevi passaggi in alcol etilico a concentrazione decrescente (100-100-95-70%) ciascuno per 2 minuti eccetto l'ultimo più breve di 1 minuto, oltre ad una rapida immersione in acqua di fonte e acqua distillata, rispettivamente per 15 e 20 secondi;
- Colorazione: il primo colorante utilizzato è l'ematossilina, la quale avendo proprietà basiche si legherà alle strutture cellulari cariche negativamente, tra cui nucleo e membrane, colorandole di blu/violetto. Il passaggio dura 2:30 minuti, seguito da un passaggio di 7 minuti in acqua di fonte per rimuoverne l'eccesso e uno in alcol etilico 95% per 15 secondi in modo da favorire la seconda colorazione con l'eosina a base alcolica. Si procede con la seconda colorazione di eosina per 50 secondi.
- Disidratazione e chiusura: passaggio opposto all'idratazione, prevede l'immersione dei vetrini in alcol etilico a concentrazione crescente (95-95-100-100%), i primi due passaggi hanno una durata di 30 secondi, gli ultimi due di 1 minuto; si conclude con due passaggi in xilolo per 2 minuti ciascuno.

L'assemblaggio dei vetrini si conclude con la tamponatura degli stessi per rimuovere l'eccesso di xilolo, la stesura di una goccia di colla trasparente al centro, la quale essendo solubile in xilolo, effettua un breve passaggio in quest'ultimo che la rende meno vischiosa, facilitando l'adagiamento del vetrino coprioggetto facendo particolare attenzione ad evitare la formazione di bolle o la loro eliminazione. A 24 ore dalla fine dell'assemblaggio, i vetrini sono pronti per essere analizzati.

3. RISULTATI E DISCUSSIONI

3.1. RISULTATI MACROSCOPICI

L'elaborato, per il suo studio, prende in considerazione le autopsie di cinque esemplari di nutria. In seguito alle indagini macroscopiche, gli esemplari non hanno riscontrato alcun tipo di lesioni di carattere patologico, risultando così essere soggetti sani. L'esame macroscopico si è dunque evoluto nell'analisi delle lesioni traumatiche causate dai proiettili. Tra le più rilevanti, si trovano lesioni emorragiche con abbondanti coaguli a livello della cavità toracica in prossimità di organi vitali quali cuore e polmoni negli esemplari 2, 3, 4, 5; confermando l'ipotesi di shock emorragico. Quest'ultimo si verifica quando, a seguito di una lesione traumatica o un'emorragia interna, il volume di sangue perso supera la capacità compensatoria dell'organismo, diminuendo in sequenza il ritorno venoso al cuore, il volume sistolico, la gittata cardiaca, la pressione arteriosa ed infine la perfusione tissutale, risultando insufficiente, provocando così ipossia tissutale e disfunzione multiorgano. I traumi tissutali nei cinque esemplari analizzati, sono risultati contenuti rispetto ad altri esemplari all'interno del progetto di ricerca, nei quali si è potuto comunque evidenziare come alcuni colpi possono provocare gravi danni fino anche a distruggere la struttura macroscopica di alcuni organi. Sempre in altri esemplari non compresi all'interno dell'elaborato ma compresi nel progetto, è stato possibile evidenziare importanti fratture a livello della colonna vertebrale, tali da determinare un'interruzione totale della continuità della colonna, con conseguente instabilità strutturale dell'intero corpo e flessioni anomale dello stesso. Nonostante ciò, nella maggior parte degli esemplari le lesioni si sono evidenziate a livello cranico e toracico, sottolineando così l'attenzione dei cacciatori ai punti più sensibili dell'animale.

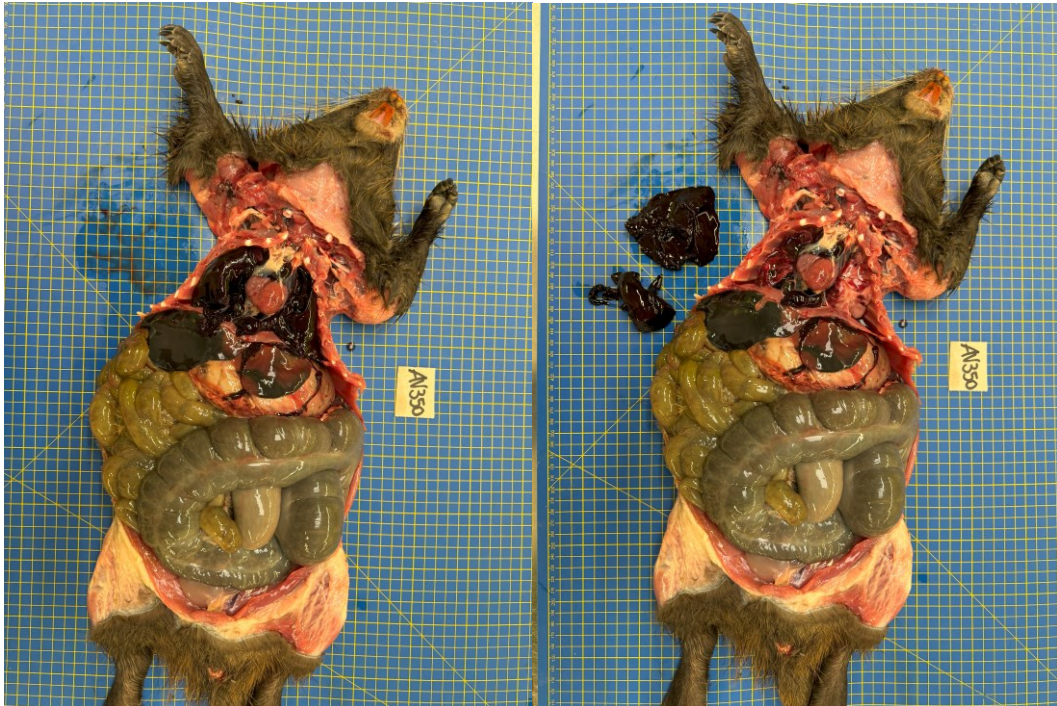


Figura 3.1 e 3.2. Nutria 5. Si evidenziano nelle immagini i danni di tipo emorragico e l'entità del coagulo, comprendente l'intera cavità toracica.

3.2. RISULTATI MICROSCOPICI

Tutti gli esemplari, successivamente all'analisi macroscopica, sono stati sottoposti ad analisi microscopica tramite letture di vetrini al microscopio ottico, ottenuti dai campionamenti di organi e tessuti quali sistema nervoso centrale, cuore, polmoni, milza, fegato, intestino e reni. Nessun esemplare ha riscontrato lesioni di carattere patologico in nessuno degli organi campionati; le uniche lesioni presenti ed evidenziabili sono state lesioni autolitiche post mortali che hanno portato alla perdita della struttura istologica. L'esemplare 1 ha riportato una nefrite cronica riconoscibile dall'elevato numero di linfociti, specialmente a livello perivascolare. La flogosi è risultata essere multifocale di grado moderato, compatibile anche con le flogosi riportate in letteratura⁴.

3.3. DISCUSSIONE

Da ciò che emerge dai risultati, si può concludere che gli esemplari presi in esame in questo elaborato godessero di un buon stato di salute, a partire dall'esame macroscopico che non ha riscontrato lesioni patologiche bensì solo traumatiche legate alla causa del decesso, e confermato dall'esame microscopico. Dagli esami eseguiti non vi sono evidenze che questi esemplari possano essere affetti da patologia. Tale piano di monitoraggio, iniziale e preliminare, continuerà con l'analisi di altri esemplari, ai quali verrà affiancato uno studio batteriologico, sierologico, e virologico per evidenziare eventuali patologie di cui questi animali possano essere portatori e non malati. Inoltre, gli abbattimenti verranno eseguiti anche in altri areali geografici per verificare lo stato di salute dei soggetti in altre zone. Si stanno inoltre considerando altre possibili tecniche di abbattimento, trasferimento degli animali in zone che limitino i danni all'ecosistema, agricoltura e rete idrografica, e programmi di sterilizzazione.

BIBLIOGRAFIA

1. ALLEGATO A alla Dgr n. 1263 del 01 agosto 2016, REGIONE DEL VENETO.
2. E. Bollo, P. Pregel, S. Gennero, E. Pizzoni, S. Rosati, P. Nebbia, B. Biolatti, Health status of a population of nutria (*Myocastor coypus*) living in a protected area in Italy. *Research in Veterinary Science*, Volume 75, Issue 1, 2003, Pages 21-25, ISSN 0034-5288, [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(03\)00035-3](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(03)00035-3).
(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034528803000353>).
3. Sergio A. Zanzani, Annarita Di Cerbo, Alessia L. Gazzonis, Sara Epis, Anna Invernizzi, Silvia Tagliabue, Maria T. Manfredi; Parasitic and Bacterial Infections of *Myocastor coypus* in a Metropolitan Area of Northwestern Italy. *J Wildl Dis* 1 January 2016; 52 (1): 126–130. doi: <https://doi.org/10.7589/2015-01-010>.
4. Nicoletti A, Pregel P, Starvaggi Cucuzza L, Bollo E, Scaglione FE. Un aggiornamento sullo stato di salute di *Myocastor coypus* nel Nord Italia. *Animali (Basilea)*. 12 gennaio 2024; 14(2):245. DOI: 10.3390/ani14020245. PMID: 38254414; PMCID: PMC10812484.
5. Nardoni S, Angelici MC, Mugnaini L, Mancianti F. Prevalenza dell'infezione da *Toxoplasma gondii* in *Myocastor coypus* in una zona umida italiana protetta. *Vettori di parassiti*. 23 dicembre 2011; 4:240. DOI: 10.1186/1756-3305-4-240. PMID: 22196032; PMCID: PMC3262763.
6. The necropsy in veterinary medicine: a manual for alberta practitioners and RVTS. P. N. Nation DVM, PhD, DACVP; Adjunct Professor, Department of Laboratory Medicine and Pathology, Faculty of Medicine and Dentistry, University of Alberta, Edmonton, Alberta T6G 2R7.