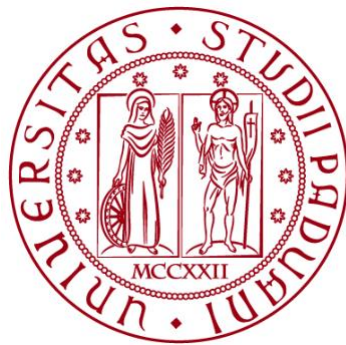


**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**

**DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA**

**Corso di Laurea in Biotecnologie**



**ELABORATO DI LAUREA**

**METODOLOGIE DI CAMPIONAMENTO  
SANITARIO IN TRACHEMYS SCRIPTA:  
PROTOCOLLO DIAGNOSTICO PER  
TARTARUGHE INVASIVE IN UN  
CENTRO DI CUSTODIA**

**Tutor: Prof.ssa Laura Cavicchioli**

**Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione (BCA)**

**Co-tutor: Dott. Luca Spadotto**

**Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione (BCA)**

**Laureanda: Marta Angelici**

**ANNO ACCADEMICO 2024/2025**

# INDICE

## Abstract

1. *Introduzione*
  - 1.1 Contesto storico e geografico del delta del Po
  - 1.2 Le Specie Aliene Invasive
  - 1.3 *Trachemys scripta*
  - 1.4 Zoonosi e Fenomeno dell'antibiotico resistenza
  - 1.5 Centro di Custodia di *Trachemys scripta* presso il Parco Regionale Veneto Delta del Po
2. *Materiali e metodi*
  - 2.1 Centro di custodia
  - 2.2 Attività di Campionamento
  - 2.3 Analisi microbiologica
3. *Risultati*
  - 3.1 Studio di Popolazione
  - 3.3 Risultati dell'analisi microbiologica
  - 3.3 Studio dei patogeni
4. *Conclusioni*

## Bibliografia

## **ABSTRACT**

L'attività di tesi descritta è relativa al campionamento microbiologico periodico di esemplari di *Trachemys scripta* tramite un tampone tracheale e un tampone cloacale, a seguito dei quali sono state eseguite delle analisi parassitologiche sulle feci degli stessi. I campioni sono stati analizzati all'interno dei laboratori del MAPS e dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVe).

La diffusione delle *Trachemys* come animali da compagnia negli anni '90 e il successivo divieto di vendita e detenzione in quanto considerate specie aliene invasive (IAS), ha portato al loro rilascio incontrollato in natura.

In questa tesi ci proponiamo di analizzare i risultati batteriologici e parassitologici dei vari esemplari di *Trachemys scripta* recuperati in un rifugio all'interno del Parco del Delta del Po per monitorare il loro stato di salute e la diffusione di eventuali agenti patogeni.

Un lavoro simile ma eseguito su esemplari di *Chelydra serpentina* e *Macrochelys temminckii* è stato svolto nel 2022 nelle regioni del Nord e Centro-Nord dell'Italia, principalmente nel Lazio e nell'Umbria, da G. Esposito; L. Di Tizio; M. Prearo.

# 1. INTRODUZIONE

## *1.1 Contesto storico e geografico del delta del Po*

In Veneto sorge un parco naturalistico i cui confini sono stati modellati nel corso dei secoli dall'attività fluviale del Po, che lo percorre in lunghezza per poi gettarsi nel mar Adriatico.

Il Parco Regionale Veneto del Delta del Po si sviluppa principalmente nella provincia di Rovigo estendendosi in nove comuni, tra cui Adria, Rosolina e Porto Viro.

Le diverse facce di questa terra raccontano di attività umane come il commercio per via marittima, il trasporto di beni attraverso la navigazione fluviale verso l'interno della pianura, oltre alla pesca e all'agricoltura.

Il corso del fiume Po non è mai stato statico, nel corso dei secoli si è potuto assistere quindi ad un'inversione del processo di antropizzazione: l'essere umano che da sempre è abituato a piegare alla sua volontà il territorio si è ritrovato a dover seguire il volere di un fiume per creare i suoi insediamenti.

La storia dell'uomo si lega prestissimo al corso del fiume e in particolare al suo delta, infatti i primi abitanti cominciano ad insediarsi sulle sue sponde già durante l'Età del Bronzo, in un periodo compreso tra il 2000 e il 1600 a.C (1).

Pur non essendo centro di primaria importanza, il territorio risentì sempre degli avvenimenti politici, in particolare, della crisi dell'Impero Romano nel III secolo d.C, e la discesa di popolazioni barbare come i Longobardi, portarono al massiccio abbandono dei diversi centri abitati che avevano preso vita lungo gli argini; questo permise alla zona del delta di riprendere riguadagnare il suo profilo naturale, ma solo brevemente. Infatti, le diverse fasi storiche susseguite sono riuscite a lasciare un segno tangibile nel Delta del Po: oltre ai centri storici, ville settecentesche nobiliari, e floride le attività commerciali; più volte nel corso dei secoli l'uomo ha agito direttamente sul Delta, deviando il corso del fiume, bonificando i territori paludosi e modellando il territorio affinché potesse supportare le attività commerciali umane, gli allevamenti ittici e la pesca.

Al giorno d'oggi, nei quasi sessantamila ettari del parco è racchiusa una biodiversità naturalistica di fauna e flora unica nel panorama italiano, tanto da diventare parte

nel 2015 del programma MAB (Man and the Biosphere) promosso dall'UNESCO (2).

### ***1.2 Le Specie Aliene Invasive (IAS)***

Il Delta del Po ha sempre avuto un ruolo cruciale nel commercio, sia per via marittima che per via terrena.

Le specie aliene sono specie che sono state trasportate dall'uomo fuori dal loro territorio di origine o dal loro habitat naturale, in modo volontario o accidentale.

Di queste, scoiattoli, arvicole, tartarughe, ma anche gatti, raganelle e molluschi bivalvi, sono solo alcune delle specie aliene *invasive*, ovvero dannose per l'habitat in cui vengono introdotte o per le specie autoctone.

Non tutte sono state esportate consapevolmente, alcuni animali, piante e anche microrganismi possono essere trasportati involontariamente facilmente mimetizzabili o capaci di nascondersi sono stati trasportati accidentalmente attraverso il commercio e le merci.

Molte di queste specie però sono state introdotte volontariamente come gli animali da compagnia; questo è il caso delle *Trachemys*, piccole tartarughe d'acqua dolce, vendute fino a pochi anni in coppia o in solitaria anche nei piccoli negozi di animali. Queste tartarughe, anche note come "tartarughe dalle orecchie rosse" sono state introdotte in Europa dal continente americano e venivano vendute come animali domestici a clienti spesso inconsapevoli dei loro bisogni e longevità.

Le *Trachemys*, infatti, aumentano considerevolmente di dimensioni, arrivando a misurare oltre i 30 cm in lunghezza, anche se la misura media, specialmente nei maschi, è più piccola (3).

Oltre alle considerevoli dimensioni, sono anche animali particolarmente longevi e in condizioni favorevoli sono capaci di superare i trenta anni di età.

Nel 2014 la specie *T. scripta* viene inserita nel regolamento europeo n. 1143/2014 volto a controllare l'importazione, l'esportazione, la detenzione e il commercio delle specie invasive.

Una volta divenuta illegale la loro vendita, e detenzione, gli esemplari non più desiderati venivano poi rilasciati negli ambienti naturali come in laghetti o stagni, dove poi gli animali riuscirono a proliferare rapidamente.

Questo continuo ed incontrollato rilascio di specie non autoctone del territorio ha avuto, e sta avendo, conseguenze devastanti sia sulla fauna locale, che ne risulta minacciata indirettamente poiché costretta a competere per le risorse disponibili, che sull'ambiente.

### ***1.3 Trachemys scripta***

Le specie di tartarughe che sono state prese in considerazione durante il corso dello studio appartengono al genere delle *Trachemys*, a sua volta appartenente alla famiglia delle *Emydidae*. La famiglia delle *Emydidae* comprende tartarughe di acqua dolce e di palude, ormai diffuse in tutto il globo ad eccezione dell'Australia. Le specie appartenenti a questa famiglia trascorrono principalmente la loro vita in acqua, dove si rifugiano per andare in letargo nei mesi invernali.

Le tartarughe che sono state analizzate appartengono alla specie delle *Trachemys scripta*, una delle specie maggiormente differenziate e diffuse. Le tre sottospecie principali sono: *Trachemys s. scripta*, *Trachemys s. elegans* e *Trachemys s. troostii*, concentrate principalmente originarie negli stati a Sud-Est degli Stati Uniti d'America (USA), ma ormai largamente presenti anche lontane dalla costa Est.

Come detto sopra, la loro eccezionale capacità di adattamento ha permesso la loro diffusione anche nel continente Europeo, dove hanno colonizzato in fretta i principali specchi d'acqua dolce.

La loro diffusione in territorio europeo è imputabile a diversi fattori: la vendita nei negozi di animale di quartiere, le scarse conoscenze che si hanno nei confronti di questo animale che portano a sottovalutare i suoi bisogni reali e infine l'ampio mercato di animali da compagnia che ha cominciato a fiorire negli anni '90.

A prima vista, queste tre sottospecie si differenziano per la caratteristica striscia colorata presente ai lati della testa: gialla nelle *T. s. scripta*, rossa nelle *T. s. elegans* e arancione nelle *T. s. troostii*.

### ***1.4 Zoonosi e Fenomeno dell'Antibiotico Resistenza (AMR)***

Il campionamento delle *Trachemys* permette di monitorare lo stato di salute degli esemplari e verificare la presenza di microrganismi patogeni, in modo da poter prevenire la diffusione di patogeni, molti di questi responsabili di zoonosi.

Il fenomeno dell'antibiotico-resistenza è un fenomeno di adattamento batterico sempre più diffuso, dove un batterio è capace di sopravvivere e replicarsi nonostante l'azione degli antimicrobici. Alcuni batteri sono resistenti per natura ad alcune classi di antibiotici, ma sempre più batteri stanno diventando resistenti questo è dovuto al fatto che nel tempo le specie di batteri sottoposte a stress e a pressione evolutiva in ambiente sfavorevole, hanno acquisito dei meccanismi che permettono loro di difendersi.

La causa di questo fenomeno è da imputare all'eccessivo utilizzo degli antimicrobici in agricoltura e nell'allevamento, soprattutto negli allevamenti intensivi, e ad una scorretta gestione dei rifiuti. Le falde acquifere contaminate infatti sono un luogo dove i batteri possono proliferare e venire in contatto con gli antimicrobici, e sviluppare resistenza.

Gli antibiotici vengono infatti eliminati dal corpo sotto forma di metaboliti, che finiscono nelle falde acquifere e nel terreno, spesso perché gli impianti di depurazione non sono capaci di eliminare i residui medicinali; questo favorisce la proliferazione di batteri resistenti nell'ambiente e causa lo sviluppo di meccanismi di resistenza anche in batteri non target.

Un utilizzo sconsiderato di antibiotici può esercitare una pressione selettiva anche sui batteri commensali, che colonizzano le nicchie biologiche del corpo umano, portandoli a sviluppare resistenza.

I batteri, infatti, sono capaci di comunicare con altri microrganismi e di scambiare materiale genetico, o di acquisire materiale genetico esterno come i plasmidi, aumentando la trasmissione delle resistenze anche a batteri patogeni.

Nel tempo i batteri sensibili vengono eliminati a favore di quelli resistenti, che non rispondono ai trattamenti antibiotici.

Questo fenomeno sta diventando sempre più pericoloso, e i batteri antibiotico-resistenti si stanno diffondendo anche negli ambienti ospedalieri, rappresentando un rischio maggiore per le categorie più fragili, come le donne in gravidanza, gli anziani o i pazienti immunocompromessi. La tutela della salute pubblica rimane uno dei motivi per cui è importante il campionamento batteriologico di animali selvatici.

Uno studio del 2022 effettuato nella regione spagnola della Catalogna su esemplari di *Trachemys scripta* e altri animali selvatici come il *Neovison vison*, ha evidenziato che su 91 esemplari di *Trachemys* il 25% era portatore di batteri antibiotico-resistenti (4), nello specifico questi batteri presentavano caratteristiche di resistenza ai  $\beta$ -lattamici, che risultano essere tra gli antibiotici più usati in ambito medico e veterinario.

Un'altra minaccia alla salute pubblica è costituita dalle zoonosi, malattie infettive trasmesse per via diretta o indiretta dagli animali all'uomo.

Le zoonosi causano ogni anno circa un milione di morti e rappresentano il 75% delle malattie infettive emergenti, per questo si è arrivati alla conclusione che per contrastare questo fenomeno la soluzione è una cooperazione tra gli enti di medicina umana e veterinaria, tra cui gli Istituti zooprofilattici sperimentali che hanno il compito di sorveglianza epidemiologica. L'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, IZSVE, ha inserito nel report per l'anno 2022 delle zoonosi più diffuse in Europa la campilobatteriosi, la salmonellosi, la listeriosi e le infezioni da *E. coli* verocitotossici.

La diffusione di esemplari di *T. scripta* nel territorio italiano può comportare non solo un rischio per la fauna e la biodiversità autoctone, ma anche per l'uomo, in quanto possono essere serbatoi di diversi patogeni pericolosi. Degli esemplari di *Trachemys scripta* trovati in alcuni stagni della città di Torino sono risultati portatori di diversi sierotipi di *Leptospira* spp, batterio che causa la malattia Leptospirosi, una delle zoonosi più diffuse globalmente. (5)

La Leptospirosi persiste in natura grazie alla presenza di alcuni animali "serbatoio" che espellono continuamente Leptospire nelle urine; l'infezione umana avviene per via oro-fecale tramite contatto diretto o indiretto con acque contaminate.

L'attività di campionamento e il controllo epidemiologico effettuato sugli animali selvatici permette di monitorare la presenza di eventuali malattie infettive e prevenirne la diffusione, per tutelare la salute dell'uomo e degli animali.

A questo scopo viene svolta l'attività di campionamento sugli esemplari di *T. scripta* nel Centro di Custodia presso il Parco Regionale Veneto del Delta del Po.

### ***1.5 Centro di Custodia di Trachemys scripta presso il Parco Regionale Veneto Delta del Po***

Viste le necessità del territorio, nel 2020 è stato istituito un centro di custodia permanente per *T. scripta*, da un progetto nato dalla collaborazione tra la Regione Veneto, il Dipartimento di Biomedicina comparata e Alimentazione (BCA) dell'Università di Padova e il Parco Regionale Veneto del Delta del Po.

Il centro situato in località Ca' Pisani del comune di Porto Viro è situato all'interno dei confini del Parco Regionale

Questo raccoglie gli animali che sono stati abbandonati o che vengono trovati dalle forze dell'ordine, al fine di mettere in sicurezza gli animali stessi e di proteggere l'habitat del Parco dalla presenza di specie aliene.

Oltre all'attività di custodia e monitoraggio dello stato di salute ed epidemiologico delle *Trachemys* il centro viene anche utilizzato per svolgere attività di informazione, al fine di sensibilizzare il pubblico alla tematica delle specie aliene, e didattica, in quanto è sede di attività di tirocinio universitario.

## **2. MATERIALI E METODI**

### ***2.1 Il Centro di Custodia***

L'attività di tirocinio è stata svolta nel Centro di Custodia del Parco Regionale, presso il comune di Porto Viro (RO) e si è concentrata nei mesi primaverili ed estivi dell'anno 2024, anche se l'attività di campionamento viene portata avanti con regolarità dal personale e da studenti afferenti al dipartimento di BCA e da alcuni volontari.

In genere il campionamento degli esemplari avviene una volta al mese, oppure solitamente quando viene raggiunto un numero sufficiente di *Trachemys* da esaminare (non inferiore ai venti) oppure nel caso in cui arrivino al centro numeri considerevoli di esemplari in un breve periodo di tempo.

Per ogni esemplare, prima di essere spostato all'interno delle vasche di quarantena, si procede con la fotografia del piastrone e del carapace, e successivamente con l'identificazione della specie e della sottospecie.

In seguito a questo primo riconoscimento, ogni animale viene identificato tramite l'apposizione di una marcatura fisica a livello delle placche marginali del carapace tramite un utensile rotativo elettrico multifunzionale, il codice alfanumerico risulterà univoco in modo tale da permettere di riconoscere l'esemplare in ogni momento all'interno del centro.

### ***2.2 Attività di Campionamento***

L'attività di campionamento microbiologico degli esemplari di *Trachemys* si articola in tre tipi di indagini: batteriologiche (generaliste e specifiche per la ricerca di *Salmonella* spp.), parassitologiche e sierologiche (per la ricerca di *Leptospira* spp). Il campionamento e le successive analisi hanno come scopo quello di escludere la presenza di potenziali patogeni, sia per l'uomo che per gli altri esemplari di *Trachemys*, come ad esempio: *Aeromonas* spp, *Proteus* spp, *Serratia* spp e *Klebsiella* spp. (6)

Il campionamento batteriologico specifico per la *Salmonella* viene effettuato in quanto i rettili, e di conseguenza anche le *Trachemys*, sono noti portatori di diversi sierotipi di *Salmonella* spp. L'infezione da *Salmonella* (salmonellosi) nell'uomo è

causata dal contatto diretto con del materiale contaminato ed è associata a sintomi con gravità variabile, un sierotipo patogeno è *S. typhi* che nell'uomo causa la febbre tifoide. Anche i rettili possono contrarre la salmonellosi, soprattutto se il loro sistema immunitario è compromesso, ed il trattamento risulta problematico in quanto sono comuni le forme di antibiotico resistenza; di conseguenza visto il potenziale zoonosico alto se un esemplare risulta positivo viene praticata l'eutanasia. Il tampone cloacale per rilevare la presenza di *Salmonella* spp viene effettuato tre volte a settimana in quanto il batterio non viene costantemente eliminato attraverso le feci.

I campioni vengono marcati con il codice della tartaruga e analizzati nei laboratori del Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute (MAPS) dell'Università di Padova.

L'attività di campionamento batteriologico viene svolta per monitorare lo stato di salute degli esemplari di *Trachemys*, tramite l'utilizzo di due tamponi batteriologici, uno tracheale e uno cloacale.

Per questi tamponi batteriologici viene utilizzato un terreno di trasporto agar Amies, idoneo a garantire la sopravvivenza di molti microrganismi, in quanto consente la conservazione fino a 48 ore di batteri aerobi e anaerobi. Il terreno Amies, costituito da sali con aggiunta di agar, garantisce la sopravvivenza dei microrganismi impedendone la moltiplicazione, così da preservarne la quantità e tipologia. Questi tamponi vengono poi analizzati all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVE) nella sede di Legnaro.

Le analisi parassitologiche vengono eseguite sulle feci degli animali, in assenza di materiale fecale viene utilizzata l'urina. Si ricercano principalmente larve, uova e parassiti tramite un esame copro-microscopico.

Per poter condurre delle analisi sierologiche sono stati prelevati dei campioni di sangue dalle *Trachemys* all'altezza del seno venoso subcarapaciale (subverticale), con l'obiettivo di analizzare gli anticorpi rilevati. In questo caso gli animali vengono posti in posizione prona e spesso è necessaria la presenza di due persone,

di cui una deve mantenere l'esemplare in posizione corretta con la testa reclinata e l'altra pratica il prelievo ematico. Il prelievo è stato effettuato senza sedazione.

### **2.3 Analisi microbiologica**

Le analisi microbiologiche sono state svolte dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVE) per i campioni batteriologici generalisti e dal Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute (MAPS) per verificare la presenza di *Salmonella* spp.

L'esame batteriologico generale segue una procedura standard, ovvero con semina in terreno di coltura, i terreni possono essere selettivi per diminuire la presenza di eventuali contaminanti ed evidenziare la presenza di eventuali patogeni. Le piastre vengono poi poste in incubatore per diverse ore ad una temperatura di 35-37 °C per permettere la crescita delle colonie, che verranno poi analizzate e identificate. L'identificazione dei batteri può essere effettuata in modo diretto tramite esame microscopico o può essere molecolare se effettuato tramite PCR o MALDI-TOF.

Nel caso di polimicrobismo, i campioni vengono analizzati tramite MALDI-TOF, uno spettrometro di massa che permette di identificare specie batteriche e fungine comparando gli spettri di massa ottenuti dal campione con i profili presenti nelle banche dati. Questo processo permette una identificazione accurata della specie a patto che il suo profilo proteico sia inserito nelle banche dati.

Per questo le analisi effettuate tramite MALDI-TOF sono accompagnate da una legenda che indica lo score e l'attendibilità dell'identificazione.

I campioni sierologici sono stati analizzati al Dipartimento MAPS di Agripolis tramite test di microagglutinazione (MAT), basato sul rilevamento di anticorpi specifici per un agente patogeno e più comunemente utilizzato per la diagnosi della leptospirosi.

### 3. RISULTATI e ANALISI

#### 3.1 Studi di popolazione

Nel periodo compreso tra Maggio e Novembre 2024 sono stati analizzati 76 esemplari, di cui 75 appartenenti a *Trachemys scripta* ed uno appartenente alla specie delle *Mauremys*.

Gli esemplari analizzati sono stati raccolti dal personale del Centro di Custodia all'interno della regione Veneto. I dati ottenuti durante lo studio sono stati registrati su fogli Excel, dove è stato indicato il numero dei campioni, il codice identificativo degli esemplari di *Trachemys* e i risultati dei tamponi cloacali e orali.

#### 3.2 Analisi microbiologica

Dei tamponi orofaringei e cloacali effettuati su 75 esemplari di *Trachemys scripta*, 73 tamponi orofaringei e 74 tamponi cloacali presentavano crescita microbica.

La popolazione batterica riscontrata nei 73 tamponi orofaringei è prevalentemente di tipo Non-Enterobacteriaceae, tra cui spiccano *Aeromonas* spp (38%), *Acinetobacter* spp (19%), *Pseudomonas* spp (16%) ed *Erwinia* spp (13%).

I microrganismi appartenenti al genere *Erwinia* e *Pantoea* appartengono alla famiglia delle *Erwinaceae*, che si distingue dalla famiglia delle *Enterobacteriaceae* pur appartenendo entrambe allo stesso ordine.

Da notare la compresenza di specie batteriche diverse nello stesso tampone e la presenza di polimicrobismo, segnalata in 30 tamponi.

#### Tabella 1

*Esiti dei tamponi orofaringei*

Numero di esemplari campionati	Esito Batteriologico		Campioni positivi
	Famiglia	Specie	
N=73	Non Enterobacteriaceae	<i>Aeromonas hydrophila</i>	14
		<i>Aeromonas veronii</i>	10
		<i>Erwinia persicina</i>	10

	<i>Acinetobacter cumulans</i>	9
	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	7
	<i>Acinetobacter junii</i>	6
	<i>Acinetobacter pittii</i>	1
	<i>Proteus spp</i>	3
	<i>Chryseobacterium gleum</i>	2
	<i>Vagococcus fluvialis</i>	1
	<i>Pantoea agglomerans</i>	6
Enterobacteriaceae	<i>Escherichia coli</i>	2
	<i>Enterobacter ludwigii</i>	1

**Tabella 1.** Esiti batteriologici dei 73 tamponi orofaringei eseguiti su esemplari di *T. scripta*

I 74 tamponi cloacali invece registrano una presenza del 19% di *Citrobacter* spp appartenente alla famiglia delle Enterobacteriaceae. Il 32% dei tamponi cloacali registra la presenza di *Aeromonas* spp e in percentuale minore (16%) troviamo la presenza dei batteri Gram negativi *Pantoea agglomerans* e *Acinetobacter* spp (15%). In minor quantità è stata registrata anche la presenza di *Morganella morganii* e *Klebsiella variicola*.

In 22 tamponi è stata segnalata la presenza di polimicrobismo.

## Tabella 2

*Esiti dei tamponi cloacali*

Numero di esemplari campionati	Esito Batteriologico		Campioni Positivi
	Famiglia	Specie	
N= 74	Enterobacteriaceae	<i>Citrobacter braakii</i>	10
		<i>Citrobacter freundii</i>	2

	<i>Vagococcus fluvialis</i>	1
	<i>Escherichia coli</i>	1
	<i>Enterobacter bugandiensis</i>	1
	<i>Providencia alcalifaciens</i>	1
	<i>Klebsiella variicola</i>	1
	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	1
	<i>Kosakonia cowanii</i>	1
Non Enterobacteriaceae	<i>Pantoea agglomerans</i>	12
	<i>Aeromonas hydrophila</i>	12
	<i>Aeromonas veronii</i>	6
	<i>Aeromonas media</i>	3
	<i>Acinetobacter gandensis</i>	7
	<i>Acinetobacter sichuanensis</i>	2
	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	2
	<i>Chryseobacterium gleum</i>	3
	<i>Proteus spp</i>	3
	<i>Morganella morganii</i>	2

---

**Tabella 2.** Esiti batteriologici dei 74 tamponi cloacali eseguiti su esemplari di *T. scripta*

### **3.3 Studio dei patogeni**

Per facilitare le analisi, gli agenti microbiologici trovati sono stati divisi in due macrogruppi: Bacteriaceae e Non Enterobacteriaceae.

Le Enterobacteriaceae sono una famiglia di bacilli Gram-negativi asporigeni accomunati da caratteristiche biochimiche in comune, come la capacità di fermentare carboidrati e il catabolismo di aminoacidi. Sono batteri ubiquitari e molti di questi sono presenti nell'intestino dei mammiferi come batteri commensali ma possono diventare patogeni se cambiano ubicazione, come ad esempio nelle infezioni delle vie urinarie causate da *E.coli*.

Le Enterobacteriaceae presentano diversi fattori di virulenza, tra cui l'endotossina, la capsula, i plasmidi di resistenza antimicrobica e un meccanismo chiamato "variazione di fase antigenica" attraverso il quale il batterio alterna gli antigeni che esprime per rendere meno efficace la risposta immunitaria di tipo specifico. Inoltre, producono delle esotossine di origine proteica che vengono rilasciate nell'organismo ospite.

Questi batteri possono dare vita a infezioni sistemiche che quindi coinvolgono più organi, ad infezioni esclusivamente intestinali o extraintestinali.

La febbre tifoide, causata da *Salmonella typhi*, è un esempio di infezione sistemica che si trasmette per ingestione di acqua o cibo infetti, i bacilli infatti vengono liberati attraverso le feci che se non vengono correttamente smaltite propagano la contaminazione. È meno frequente nelle zone che presentano stringenti norme igienico-sanitarie ed è maggiormente presente in alcune zone remote e poco sviluppate soprattutto nel Sud-Est asiatico e in alcune regioni del Mediterraneo orientale, dove la febbre tifoide è endemica.

## NON ENTEROBACTERIACEAE

### ***Acinetobacter* spp**

Gli *Acinetobacter* sono microrganismi Gram negativi, spesso identificati come patogeni opportunisti nei pazienti ospedalieri.

Nei campioni prelevati dalle *Trachemys* sono state isolate diverse specie di *Acinetobacter* spp, tra queste *Acinetobacter pittii* è uno dei più rilevanti patogeni opportunisti dell'uomo, questa caratteristica è accentuata dalla loro capacità di sopravvivere per oltre un mese su superfici asciutte (7). *Acinetobacter* spp è un patogeno che causa infezioni del tratto urinario, dei tessuti molli ed è associato a casi di setticemia. Spesso risultano essere resistenti a vari tipi di antibiotici, soprattutto ai carbapenemi e per questo vengono classificati come agenti patogeni ad alta priorità. *Acinetobacter johnsonii* e *cumulans* possono essere isolati dagli ambienti acquatici, tra cui le acque reflue.

### ***Aeromonas* spp**

Sia nei tamponi cloacali che in quelli oro-faringei si può notare la forte presenza di alcune specie appartenenti al genere degli *Aeromonas*, bacilli Gram negativi che possono essere mobili grazie alla presenza di flagelli. Tra questi nello specifico troviamo *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas veronii* e *Aeromonas media*.

L'*Aeromonas hydrophila* è un batterio ubiquitario che può essere rilevato in diversi ambienti acquatici, sia di acqua dolce che salata. La temperatura ottimale di crescita si aggira intorno ai 28 °C, ma le basse temperature non compromettono la sua crescita e replicazione. È un microrganismo patogeno sia negli animali che nell'uomo, dove spesso causa infezioni di tipo opportunistico negli individui immunodepressi. *Aeromonas hydrophila* è capace di produrre biofilm, uno strato di matrice polisaccaridica all'interno del quale convivono spesso anche più specie di microrganismi contemporaneamente; la produzione del biofilm lo rende un microrganismo patogeno difficile da eliminare con i classici trattamenti antimicrobici e lo rende particolarmente pericoloso se la superficie su cui si estende il biofilm fa parte di un dispositivo medico come una protesi, un catetere o uno shunt. Per questo motivo *Aeromonas hydrophila* è spesso responsabile di infezioni nosocomiali, soprattutto in seguito ad operazioni chirurgiche invasive.

*Aeromonas veronii*, come l'*A. hydrophila*, è uno dei patogeni più significativi del genere *Aeromonas* ed è presente anch'esso in ambienti acquatici; l'*A. veronii* è stato più volte isolato in organismi acquatici, specie nell'industria ittica, ma come dimostra questo studio la sua presenza è estesa anche agli animali selvatici. Le infezioni causate da questo microrganismo possono coinvolgere diversi organi, le più diffuse sono di tipo gastrointestinale, polmonari e nei casi più gravi può esserci setticemia.

Solitamente nell'uomo non è associata a patologie particolarmente gravi, ma in uno studio del 2023 condotto su spigole allevate in gabbie galleggianti il tasso di mortalità cumulativo in un periodo di 3 settimane ammontava al 5%.

Molto spesso viene isolato in cibi contaminati quali pollame, prodotti caseari e frutti di mare crudi.

### ***Pantoea agglomerans***

Il genere delle *Pantoea* comprende dei bacilli Gram negativi mobili appartenenti alla famiglia delle Erwiniaceae. Tutte le specie del genere *Pantoea* possono essere isolate dal suolo o da materiale vegetale, per questo sono associate ad infezioni causate da una lacerazione della pelle causata da spine o da schegge legnose e a batteriemie causate dall'uso di cateteri, che causano infezioni del tratto urinario.

Batteriemie causate da *Pantoea agglomerans* sono state trovate anche in pazienti che seguivano una nutrizione di tipo TP (totalmente parenterale).

### ***Morganella morganii***

È un batterio Gram negativo che fa parte della normale flora batterica intestinale di umani e rettili, ma in alcuni casi può dare infezioni del tratto urinario. *M. morganii* è noto principalmente per causare infezioni nosocomiali, principalmente post-operatorie, e per essere naturalmente resistente agli antibiotici  $\beta$  lattamici, il che può costituire uno svantaggio durante la cura.

Lo sviluppo di batteriemie di *Morganella morganii* in seguito ad operazioni chirurgiche è associato anche alla presenza di preesistenti comorbidità; infatti, in pazienti diabetici il rischio di contrarre un'infezione è significativamente più alto (8).

## ENTEROBACTERIACEAE

### ***Citrobacter spp***

Il genere *Citrobacter* include 11 specie batteriche, nei tamponi microbiologici eseguiti su esemplari di *Trachemys* ne sono state isolate due: *Citrobacter braakii* e *Citrobacter freundii*. Questo genere comprende bacilli Gram negativi capaci di crescere su Agar citrato di Simmons, da cui deriva il loro nome. Questi bacilli si trovano nelle falde acquifere, nel terreno, nel cibo contaminato e nel tratto digerente di animali e dell'uomo. Raramente sono la causa principale di infezioni, di solito infatti sono associati ad infezioni nosocomiali e non vengono classificati come agenti eziologici di particolare rilievo, possono però causare infezioni del tratto urinario e del tratto respiratorio. Quest'ultima tipologia di infezione è più comune in pazienti che presentano delle comorbidità, come ad esempio la fibrosi cistica o immunodeficienza. Questi batteri sono naturalmente resistenti alla Ampicillina e vanno trattati con le Cefalosporine.

Il batterio *Citrobacter braakii* è noto per causare batteriemie in pazienti con condizioni preesistenti, come cancro cervicale (9) dove è stato identificato come agente patogeno grazie ad uno spettrometro di massa. Spesso per confermare i risultati e poter prescrivere una cura antibiotica adatta è necessario utilizzare metodiche di sequenziamento genico più approfondite, in quanto i test biochimici spesso possono essere inconclusivi.

*Citrobacter freundii* si distingue per la frequenza con cui infetta i bambini in età pediatrica, soprattutto i neonati, in cui porta a gravi infezioni del tratto urinario, gastrointestinale e respiratorio. L'infezione e conseguente batteriemia sono facilitate in presenza di anomalie metaboliche del neonato o parto pretermine.

È un batterio ubiquitario e viene classificato come patogeno opportunistico, anche se le infezioni da *Citrobacter* sono abbastanza rare; non colpisce solo l'uomo, ma anche altri mammiferi in cui provoca infezioni sistemiche multiorgano.

### ***Escherichia coli***

*E. coli* è un bacillo Gram negativo diventato ormai molto noto, in quanto è la causa principale di diverse infezioni, principalmente del tratto urinario e gastrointestinale. Normalmente, il batterio risiede stabilmente nell'intestino e fa parte della flora batterica; se si verificano però condizioni di disbiosi, oppure se il batterio viene spostato dalla sua nicchia biologica di appartenenza, possono verificarsi delle infezioni. L'infezione più comune, che colpisce principalmente le donne, è un'infezione della vescica che solitamente non è pericolosa e si risolve con qualche giorno di antibiotico.

*E. coli* è uno dei batteri che si ritrovano più frequentemente nei lotti di alimenti contaminati, come carne bovina o latte non adeguatamente pastorizzato. Il consumo di cibo contaminato può portare a gravi infezioni del tratto intestinale, alcuni ceppi sono in grado di produrre tossine che danneggiano ulteriormente il colon.

In caso di ulcerazioni intestinali il batterio può fuoriuscire ed attaccare gli organi circostanti oppure entrare nel circolo sanguigno. L'enorme varietà di ceppi presenti creano uno spettro di malattie di diversa gravità, da blande infezioni gastrointestinali a shock settico e insufficienza renale.

Questi batteri risultano essere tra i più studiati e utilizzati in biologia molecolare ed ingegneria genetica, il loro genoma è stato completamente sequenziato e molto spesso sono utilizzati come sistemi di espressione d'elezione per la produzione di proteine ricombinanti.

### ***Enterobacter spp***

Sono bacilli anaerobi Gram negativi, capaci di motilità grazie alla presenza di flagelli distribuiti lungo la superficie cellulare. L'*Enterobacter* si trova nel terreno e nell'acqua e alcune specie sono considerate fitopatogeni per diverse specie di piante, inoltre è un commensale naturale del microbiota intestinale di animali e umani. Sono principalmente associati a infezioni nosocomiali urinarie o respiratorie, soprattutto di pazienti immunocompromessi e di pazienti ospiti delle unità di terapia intensiva, in quanto si adattano particolarmente bene alla presenza di agenti antimicrobici.

L'uso eccessivo di antibiotici ad ampio spettro ha favorito la diffusione di batteri antibiotico-resistenti grazie alla loro innata capacità di acquisire elementi mobili genetici, tra questi i plasmidi che portano i geni per l'antibiotico resistenza.

La loro patogenicità e la loro resistenza agli antimicrobici è dovuta alla capacità di produrre su superfici inerti uno strato di biofilm, dove i batteri possono proliferare e comunicare, e alla produzione di diverse endotossine.

### ***Klebsiella variicola***

*Klebsiella variicola* è un batterio Gram negativo non mobile, imparentato con *Klebsiella pneumoniae*, capace di colonizzare ospiti diversi tra loro, tra cui uomini, insetti e altri animali. Come gli *Enterobacter*, risiede normalmente nella flora batterica dell'intestino e infetta principalmente gli ospiti delle strutture a lunga degenza, di comunità oppure i pazienti che presentano un dispositivo medico inserito nel corpo, come un catetere o un drenaggio.

Spesso le infezioni riguardano persone con un sistema immunitario più debole, diabetiche oppure con un disturbo da uso di alcol e colpiscono il tratto respiratorio e del tratto urinario.

### ***Providencia alcalifaciens***

Il genere *Providencia* è costituito da diverse specie di batteri Gram negativi, tra cui *Providencia alcalifaciens*, che è stato indicato come agente eziologico di diversi tipi di infezioni, tra cui infezioni del tratto urinario, setticemie e infezioni del tratto gastrointestinale. Questi microrganismi sono ubiquitari, infatti, possono essere facilmente reperibili nel suolo e nelle acque di scolo e sono stati isolati in diversi animali, tra cui pollame, cani e bovini.

Diversi studi indicano che *Providencia alcalifaciens* sia il responsabile di gastroenteriti sia nell'uomo che in diversi animali, nei paesi sviluppati e non; uno studio del 2005 di Yoh et al (10) ha sottolineato il ruolo importante che *Providencia alcalifaciens* ha nelle infezioni gastrointestinali con conseguenti episodi diarroici (Traveller's diarrhoea).

L'infezione avviene principalmente attraverso l'ingestione di cibo contaminato e può causare epidemie, questo lo rende un'importante minaccia alla salute pubblica.

#### 4. CONCLUSIONI

La diffusione di esemplari di *Trachemys scripta* in territori non autoctoni causata dal rilascio incontrollato in natura, rappresenta una minaccia sia per le specie native, che si ritrovano a dover contendere le risorse naturali per la sopravvivenza, che potenzialmente per l'uomo, in quanto questi animali sono potenzialmente portatori di specie microbiologiche patogene.

L'eventuale presenza di specie antibiotico-resistenti, come descritto nello studio di Mengistu et al. su esemplari di *T. scripta*, rappresenta un ulteriore rischio per la salute pubblica.

I risultati dello studio hanno evidenziato una marcata presenza di batteri patogeni nei 75 esemplari di *Trachemys scripta* esaminati tramite tamponi cloacali e orofaringei, nello specifico sono state rilevate diverse specie appartenenti alla famiglia delle Enterobacteriaceae, tra cui *E. coli* e *K. variicola*.

Gli esemplari risultano portatori di batteri la cui patogenicità si estende anche ad altri animali, come nel caso dei batteri appartenenti al genere *Aeromonas*.

Nonostante la loro diffusione, le *Trachemys scripta* non rappresentano una grave minaccia alla salute pubblica in quanto il contatto con l'essere umano è limitato.

Attuare delle corrette misure preventive, come il campionamento microbiologico degli esemplari di *Trachemys scripta*, permette di monitorare lo stato di salute degli animali e prevenire la diffusione di batteri capaci di provocare zoonosi, come la *Salmonella* spp.

---

## BIBLIOGRAFIA

- (1) “Parco Naturale Regionale Veneto Del Delta Del Po” <https://Www.Parcodeltapo.Org/Pagina.Php?Id=29> Pagina visitata in data 5/03/2025
- (2) “L’uomo E La Biosfera, Progetto Mab” <https://Www.Unesco.It/It/Iniziative-Dellunesco/Mab-3/> Pagina visitata in data 13/03/2025
- (3) “The Turtles of the United States and Canada” (Archie Carr; J Whitfield Gibbons)
- (4) “Occurrence of multidrug resistant Gram-negative bacteria and resistance genes in semi-aquatic wildlife - *Trachemys scripta*, *Neovison vison* and *Lutra lutra*- as sentinels of environmental health” (T. Mengistu; B. Garcias; G. Castellanos)
- (5) “Non-Native Turtles in freshwater ecosystems in Italy: a threat to biodiversity and Human Health?” (G. Esposito; L. Di Tizio; M. Prearo)
- (6) “Bacteriological screening of *Trachemys scripta elegans* and *Emys orbicularis* in the Po plain (Italy)” (C. Soccini; V. Ferri)
- (7) “Infezioni da *Acinetobacter*” <https://www.msmanuals.com/it/professionale/malattie-infettive/cocchi-e-coccobacilli-gram-negativi/infezioni-da-acinetobacter> Pagina visitata in data 10/06/2025
- (8) “Morganella Infections” <https://emedicine.medscape.com/article/222443-overview> Pagina visitata in data 10/06/2025
- (9) “Bacteremia due to *Citrobacter braakii*: A case report and literature review” <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27553069/> Pagina visitata in data 17/06/2025
- (10) “Importance of *Providencia* species as a major cause of travellers’ diarrhoea” <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16192440/> (Yoh et al).