



**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO**

DIPARTIMENTO DI SCIENZE VETERINARIE E SANITÀ PUBBLICA

## **RELAZIONE ANALISI UTERI DI LEPRE BIANCA E LEPRE COMUNE**

**Come da Determinazione n°1513 del 14/11/2011 redatta a cura del Settore Agricoltura, Ambiente, Caccia e Pesca, Servizio caccia, pesca e strutture agrarie della Provincia di Sondrio**



## METODI DI ANALISI

### Raccolta campioni

I campioni sono stati raccolti presso tutti i punti di controllo allestiti presso le sedi dei cinque Comprensori Alpini della provincia di Sondrio. Ogni cacciatore porta le proprie prede presso questi Centri che sono stati istituiti per la rilevazione e raccolta dei dati biometrici e per la verifica dello stato sanitario di tutti i capi abbattuti.

Il cacciatore porta l'animale al centro dove un tecnico procede ad effettuare i controlli previsti. Ogni animale viene accompagnato dalla "scheda identificativa del cacciatore" dove vengono riportati i dati anagrafici (nome, cognome, luogo di nascita) e tutti i dati sull'abbattimento.

Durante il controllo vengono compilate due schede a numero progressivo, una per la lepre comune (*Lepus europaeus*) e una per la lepre bianca (*Lepus timidus*) i cui dati successivamente, verranno fatti pervenire in Provincia.

Tali schede annotano:

- *Dati Abbattimento*: nome, cognome del cacciatore, data e ora, luogo, comune, quadrante della cartina (ad ogni cacciatore viene rilasciata una cartina 1:50.000 della zona, suddivisa in quadranti tanto da renderne più semplice la localizzazione), altitudine, eventuale marca dell'animale e se presente indicarne il colore o la scritta (se si tratta di lepre comune) ed infine eventuali note sull'abbattimento.

-*Dati biologici*: determinazione del sesso dell'animale (questo rilevabile solamente da palpazione poiché non esiste dimorfismo sessuale) indicandone inoltre, se maschio, la posizione dei testicoli e se femmina (inattiva, allattante, gravida con relativo numero di embrioni), la valutazione dell'età attraverso la presenza del tubercolo di Stroh indicando giovane (10 mesi) o adulto, il mantello (estivo, di transizione o invernale) per quanto riguarda la lepre bianca ed infine se il cacciatore dovesse essere d'accordo viene prelevato uno o entrambi gli occhi per la determinazione dell'età dal cristallino (l'occhio deve essere mantenuto in formalina che è il mezzo più efficace per la conservazione dei tessuti animali, questa si ottiene diluendo 1:10 in tampone fosfato una soluzione di aldeide formica al 4%) e gli organi riproduttivi (utero, ovaie e testicoli) indipendentemente dall'età dell'animale.



-*Stato sanitario e prelievo campioni*: indicare la presenza di lesioni esterne (segni di malattia), presenza di parassiti esterni, eventuali prelievi per analisi parassitologiche e microbiologiche (milza e intestino o solo intestino) e per analisi genetiche (prelievo parte di tessuto anale).

In particolare, gli uteri sono stati raccolti al termine di ogni giornata venatoria, generalmente dopo 6-12 ore dall'abbattimento dell'animale, subito immersi in acqua in contenitori di plastica o sacchetti, contrassegnati da etichetta e congelati in attesa dell'analisi.

### **Analisi di laboratorio**

Presso il Polo universitario di Lodi è stato svolto il lavoro identificativo. Queste analisi si basano sulle caratteristiche anatomiche e fisiologiche dei mammiferi. In particolare nei lagomorfi, la placenta emocoriale è di tipo discoidale ed è localizzata nella zona mesometriale; questo tipo di placenta ha una stretta associazione tra i tessuti della madre e quelli del feto causando per tanto uno strappo dell'endometrio durante il parto tanto da provocare un locale sanguinamento.

Durante il processo di guarigione crescono le nuove cellule endometriali e grazie al grande numero di macrofagi, tutti i residui placentari e di sangue intrappolati sotto al nuovo rivestimento uterino vengono inglobati e successivamente essi migrano attraverso i due strati del muscolo, prima attraverso il miometrio e poi attraverso il mesometrio. La colorazione, marcando i macrofagi, permette di evidenziarne la presenza attorno alla cicatrice consentendone la stima dell'età del parto. Al termine di questi processi cicatriziali i macrofagi scompaiono e l'utero torna alle sue dimensioni originali .

Ogni utero campionato veniva singolarmente e lentamente scongelato sotto acqua corrente fredda e poi posizionato all'interno di un vassoio per procedere alla totale asportazione di: ovaie, ovidotto, mesometrio e tessuto connettivale.

A questo punto l'utero appare pulito e pronto per essere sezionato longitudinalmente mediante l'uso di forbici piccole e molto affilate per evitare danni alle cicatrici placentari e per migliorare la visibilità delle stesse.

Il metodo di analisi utilizzato è basato sulla reazione di Turnbull, prima sviluppata da Salewski (1964) sugli uteri dei topi e poi adattata alla lepre europea da Bray *et al.*, 2003 e sulla lepre bianca da Del Maffeo, 2008.

Una volta pulito completamente, l'utero viene immerso per 10 minuti in una soluzione al 10% di ammonio solfuro ( $H_8N_2S$ ) precedentemente preparato (la preparazione avviene sotto cappa a causa delle emanazioni tossiche di queste sostanze). Al termine viene nuovamente sciacquato



con acqua fredda e immerso in una nuova soluzione di acido cloridrico al 1% e di potassio esacianoferrato al 20% per 10 minuti. E' importante eseguire successivamente un ulteriore risciacquo per eliminare ogni traccia dei reagenti vista l'elevata pericolosità delle esalazioni che questi reagenti sviluppano.

Come risultato si hanno bene in evidenza i macrofagi che, ricchi di emosiderina, assumono una colorazione variabile dal blu al beige e si dispongono in maniera particolare in base all'età delle cicatrici lasciate dalla placenta.

La valutazione degli uteri è stata effettuata mediante l'ausilio di un microscopio stereoscopico fornito di telecamera fotografica. La lettura dovrebbe essere fatta nell'arco di un'ora dalla colorazione per evitare il cambiamento di tono, colore, umidità e di tutte le caratteristiche.

Una volta identificato il numero complessivo di cicatrici rispettivamente per ogni utero, si raggruppano secondo differenze di lesione e consistenza dei macrofagi per stabilire la classe di età del feto.

La cicatrice appare come una banda bianca all'interno di due bande nere (macrofagi) con al centro il cratere, luogo in cui si è attaccata la placenta. La pigmentazione dei macrofagi è nera e fornisce un ben visibile contrasto con la parte traslucida chiara del cratere.

Ogni utero viene tagliato longitudinalmente e all'opposto dell'attacco del mesometrio per rendere la visione del cratere più limpida, esso è posizionato al centro dell'utero circondato irregolarmente talvolta da nodi. Per concludere ad ogni bordo, si notano delle depressioni circolari con pigmentazioni scure causate da raggruppamenti di sangue e macrofagi indicate come "depressione antimesometriale".

Per classificare ogni cicatrice ci si è basati su sette differenti variabili:

1. dimensione della lesione (cratere);
2. profondità del cratere;
3. colore del cratere;
4. colorazione bordi;
5. abbondanza dei macrofagi;
6. colorazione dei macrofagi;
7. colorazione della depressione antimesometriale.



Figura 1a : Rappresentazione schematica del residuo di impianto della placenta

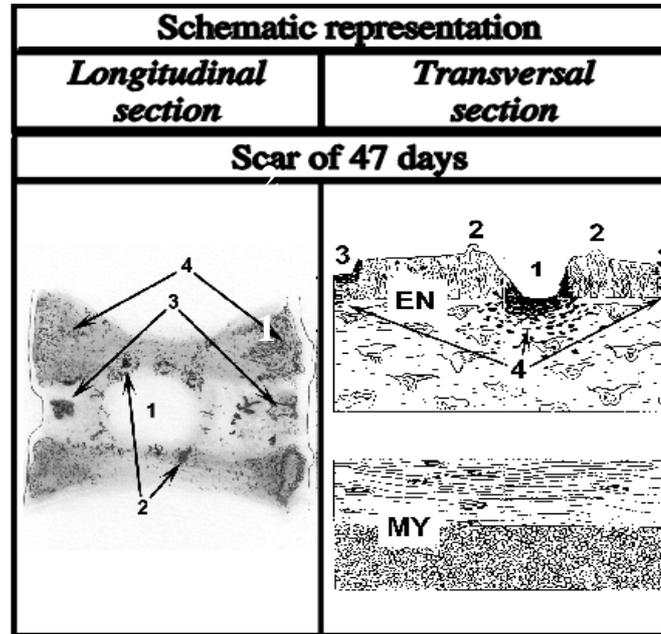
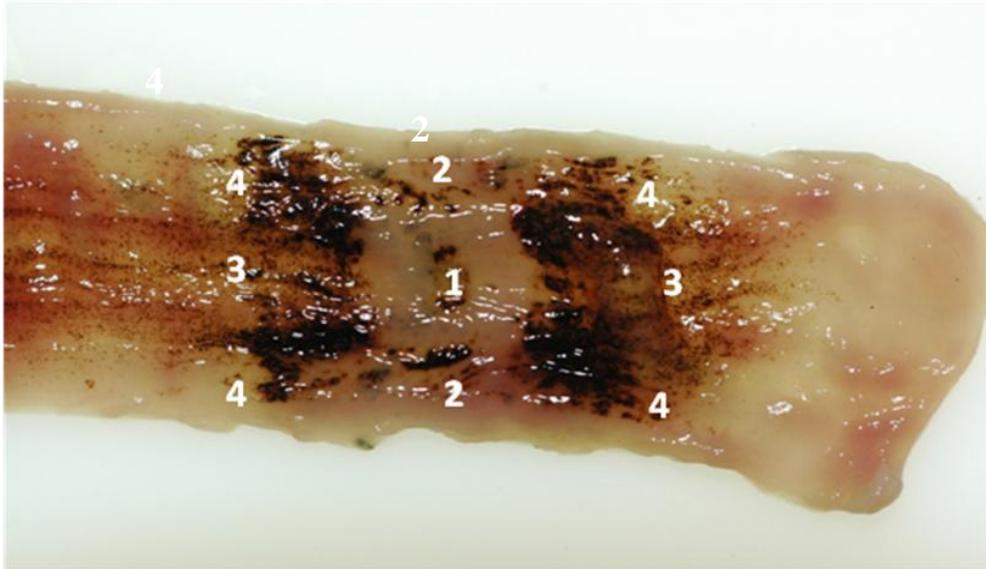


Figura 1b : Rappresentazione del residuo di impianto della placenta come da schema sovrastante



Questi parametri vengono riportati in una scheda che viene compilata annotando ogni caratteristica di ogni singola lesione (Tabella I ).

VARIABILI						
CRATERE		PROTUBERANZA	MACROFAGI		DEPRESSIONE	
<i>Profondità CD</i>	<i>Colore CC</i>	<i>Rilievo RK</i>	<i>Abbondanza MA</i>	<i>Colore MC</i>	<i>Profondità DD</i>	<i>Colore DC</i>
<b>CD0:</b> contorno difficilmente visibile	<b>CC0:</b> assente	<b>RK0:</b> assente	<b>MA0:</b> assente o rara e ampia diffusione, no gruppi	<b>MC0:</b> Assente o beige	<b>DD0:</b> assente	<b>DC0:</b> assente
<b>CD1:</b> appiattito o convesso	<b>CC1:</b> beige	<b>RK1:</b> abbastanza appiattito	<b>MA1:</b> poca abbondanza e diffusione, piccoli gruppi	<b>MC1:</b> marrone	<b>DD1:</b> poco profondo e poco visibile	<b>DC1:</b> beige
<b>CD2:</b> piccola depressione, poco visibile	<b>CC2:</b> marrone	<b>RK2:</b> prominente	<b>MA2:</b> molta abbondanza e diffusione ristretta, molti gruppi	<b>MC2:</b> Marrone scuro	<b>DD2:</b> poco profondo ma visibile	<b>DC2:</b> marrone
<b>CD3:</b> depressione poco profonda	<b>CC3:</b> Marrone scuro			<b>MC3:</b> scuro	<b>DD3 :</b> profonda e molto "brusca"	<b>DC3:</b> Marrone scuro
<b>CD4:</b> profonda	<b>CC4:</b> nero					<b>DC4:</b> nero

Tabella I: Categoria delle variabili utilizzate per la classificazione delle lesioni



Analizzata ogni singola cicatrice, questa viene classificata in base alle caratteristiche, in sei categorie d'età, come riporta la tabella sottostante (Tabella II), sulla base della lunghezza della gestazione: 41-42 giorni per la lepre comune e circa 48 - 50 giorni per la lepre bianca.

Lepre comune	Lepre bianca	Età
<ul style="list-style-type: none"><li>• <math>\leq 42</math> gg;</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <math>\leq 50</math> gg;</li></ul>	E1
<ul style="list-style-type: none"><li>• <math>\geq 43</math> gg; <math>\leq 85</math> gg;</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <math>\geq 51</math> gg; <math>\leq 100</math> gg;</li></ul>	E2
<ul style="list-style-type: none"><li>• <math>\geq 86</math> gg; <math>\leq 128</math> gg;</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <math>\geq 101</math> gg; <math>\leq 150</math> gg;</li></ul>	E3
<ul style="list-style-type: none"><li>• <math>\geq 129</math> gg; <math>\leq 171</math> gg;</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <math>\geq 151</math> gg; <math>\leq 200</math> gg;</li></ul>	E4
<ul style="list-style-type: none"><li>• <math>\geq 172</math> gg; <math>\leq 214</math> gg;</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <math>\geq 201</math> gg; <math>\leq 250</math> gg;</li></ul>	E5
<ul style="list-style-type: none"><li>• <math>\geq 215</math> gg; <math>\leq 257</math> gg;</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <math>\geq 251</math> gg; <math>\leq 301</math> gg;</li></ul>	E6

II: rappresentazione delle differenti età con la corrispondente lunghezza di gestazione

Un esempio di valutazione dell'età delle cicatrici ha messo in evidenza 8 cicatrici corrispondenti agli attacchi placentari uterine è riportato in Figura 2, dove la colorazione.



Figura 2 : utero di Lepre bianca abbattuta



Come si può osservare sono presenti 4 cicatrici sull'utero destro e 4 sul sinistro, esse hanno età differenti: 2 sono E3, 3-E4 e 3-E5. Si nota la diversa concentrazione delle bande dei macrofagi e la posizione del cratere.

La Figura 3 riporta un particolare in cui si evidenziano due cicatrici di età differente: E3 ed E4. Nell'età 3 i macrofagi sono più abbondanti e sono abbastanza marcate le bande scure a differenza dell'età 4 dove i macrofagi sono sparsi e di colore più tenue. Il cratere posto al centro della banda chiara è visibile.

Figura 3 : cicatrici di età 3 e 4

**Età 3: diminuzione nella presenza di macrofagi**



**Età 4: dissolvenza dei macrofagi e del cratere**





Nelle Figure 4a e 4b vengono evidenziate due cicatrici di età differenti, a sinistra un'età 5 mentre quella sulla destra, è di età 6, infatti si nota come i macrofagi sono pressoché scomparsi e l'attacco della placenta è impercettibile.

4a: Età 5.



4b: Età 6.



Nella Figura 5 è rappresentato un utero di lepre giovane, il rapporto con la penna mette in evidenza le ridotte dimensioni.



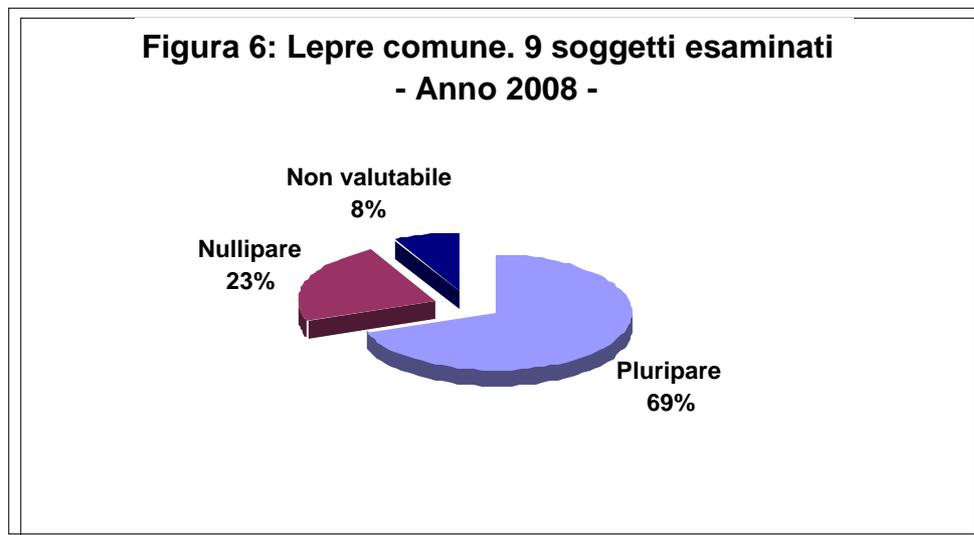
Figura 5: utero di lepre giovane



## RISULTATI

Nel corso della mia ricerca ho preso in considerazione tre stagioni venatorie: 2008, 2009, 2010. Nell'arco di questo periodo i cacciatori hanno portato presso i vari centri di controllo un notevole numero di soggetti della specie *Lepus*.

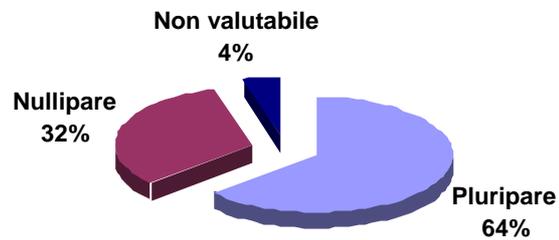
Per quanto riguarda la Lepre comune, nella stagione venatoria 2008 sono stati esaminati 9 soggetti di sesso femminile di cui 3 soggetti sono nullipare e 1 soggetto non valutabile. I risultati sono riportati nella Figura 6:



Nella stagione venatoria 2009 sono stati esaminati 43 soggetti di sesso femminile di cui 22 soggetti nullipare e 4 soggetti non valutabili. I risultati riportati in Figura 7:

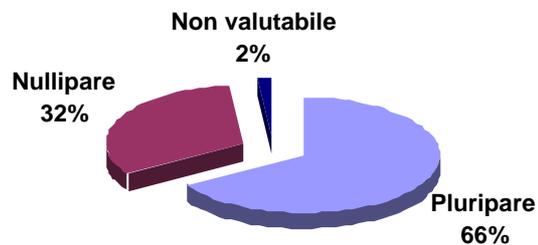


**Figura 7: Lepre comune. 43 soggetti esaminati  
- Anno 2009 -**

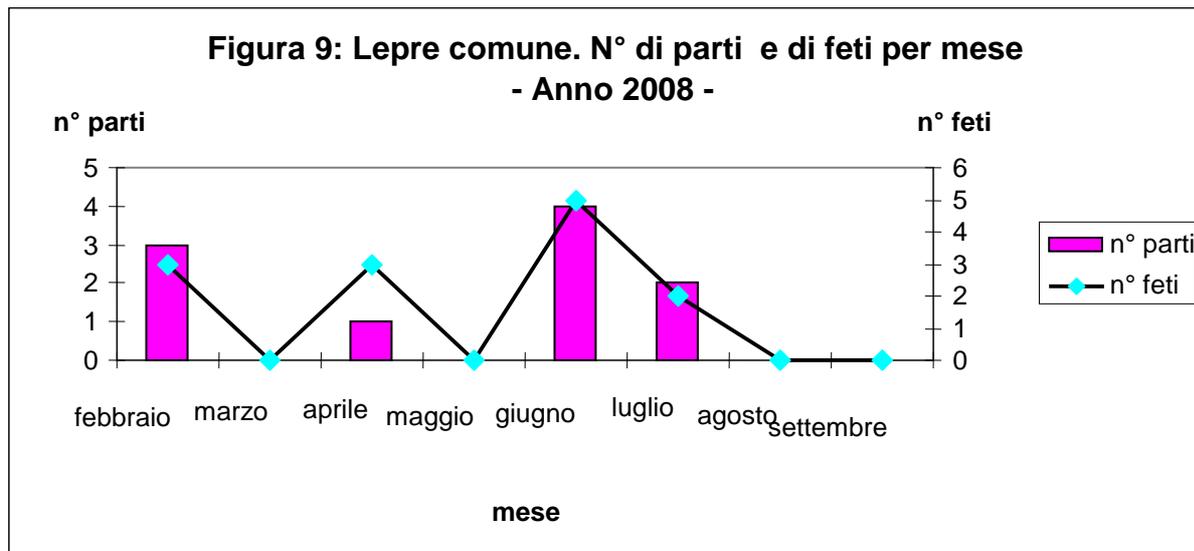


Per la stagione venatoria 2010 sono stati esaminati 37 soggetti di sesso femminile di cui 18 soggetti nullipare e 1 soggetto non valutabile. Come evidenziato dalla Figura 8:

**Figura 8: Lepre comune. 37 soggetti esaminati  
- Anno 2010 -**

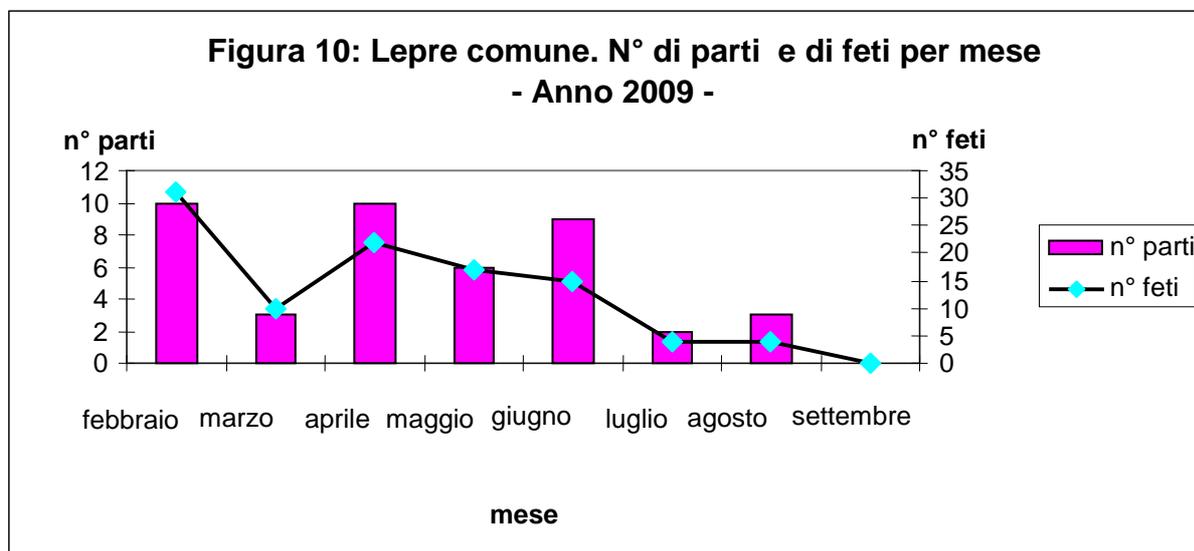


Il numero di feti per gravidanza e il mese di parto sono riportate in Figura 9: dove si notano picchi nel numero dei parti a febbraio, giugno e luglio ma un numero di feti elevati in pochi parti ad aprile.

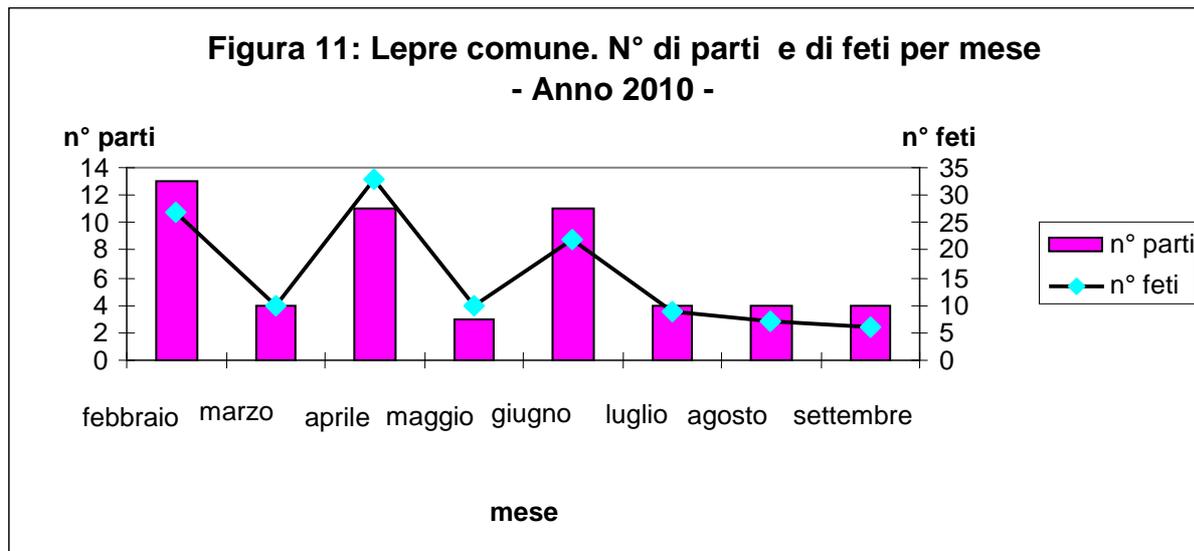


Il numero di feti totali partoriti ed il numero di parti avvenuti in base al mese per lo anno 2009, sono invece riportate in Figura 10.

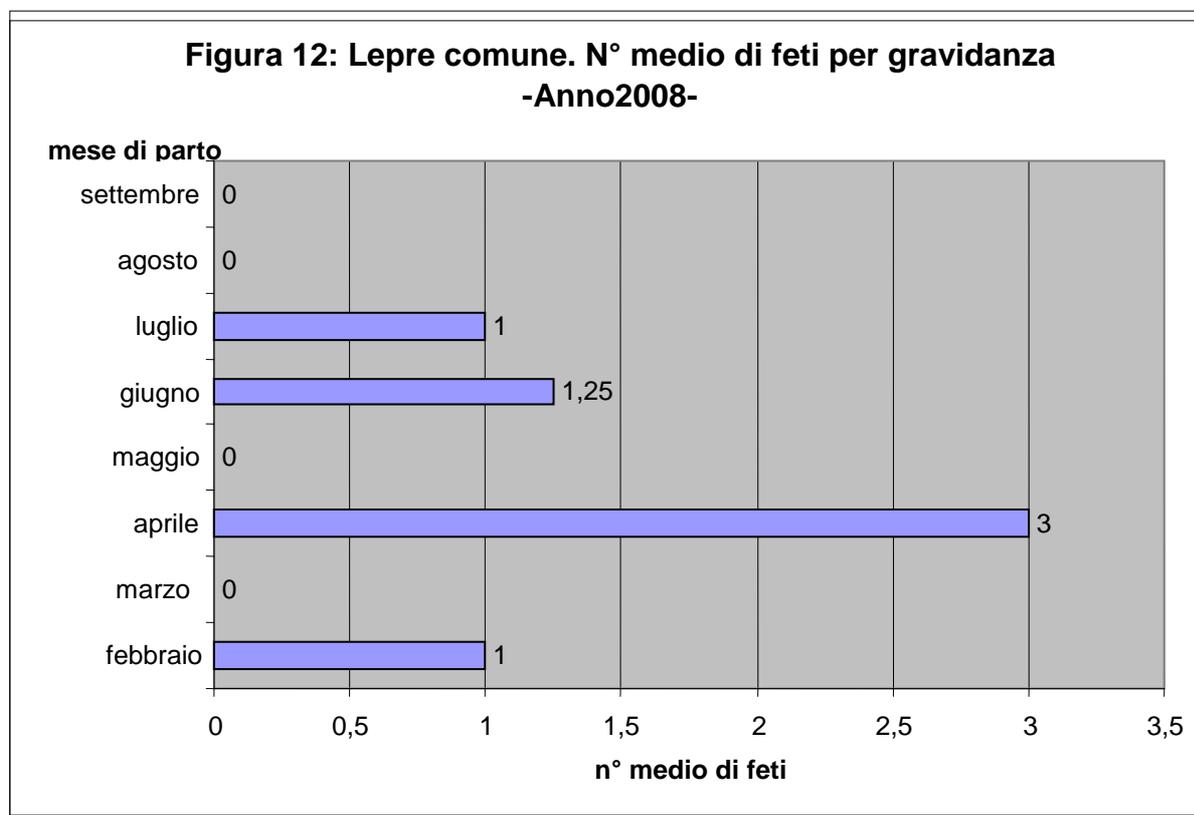
In questo grafico si notano picchi nei mesi di febbraio, aprile, maggio e giugno per calare a luglio e settembre.



Come appare nella Figura 11, il numero di parti in base al mese ed il numero di feti nell'anno in esame hanno evidenziato un andamento non rettilineo ma bensì con picchi considerevoli nel mese di febbraio, aprile e giugno. Invece in declino e con un andamento quasi rettilineo per i mesi di luglio, agosto e settembre.

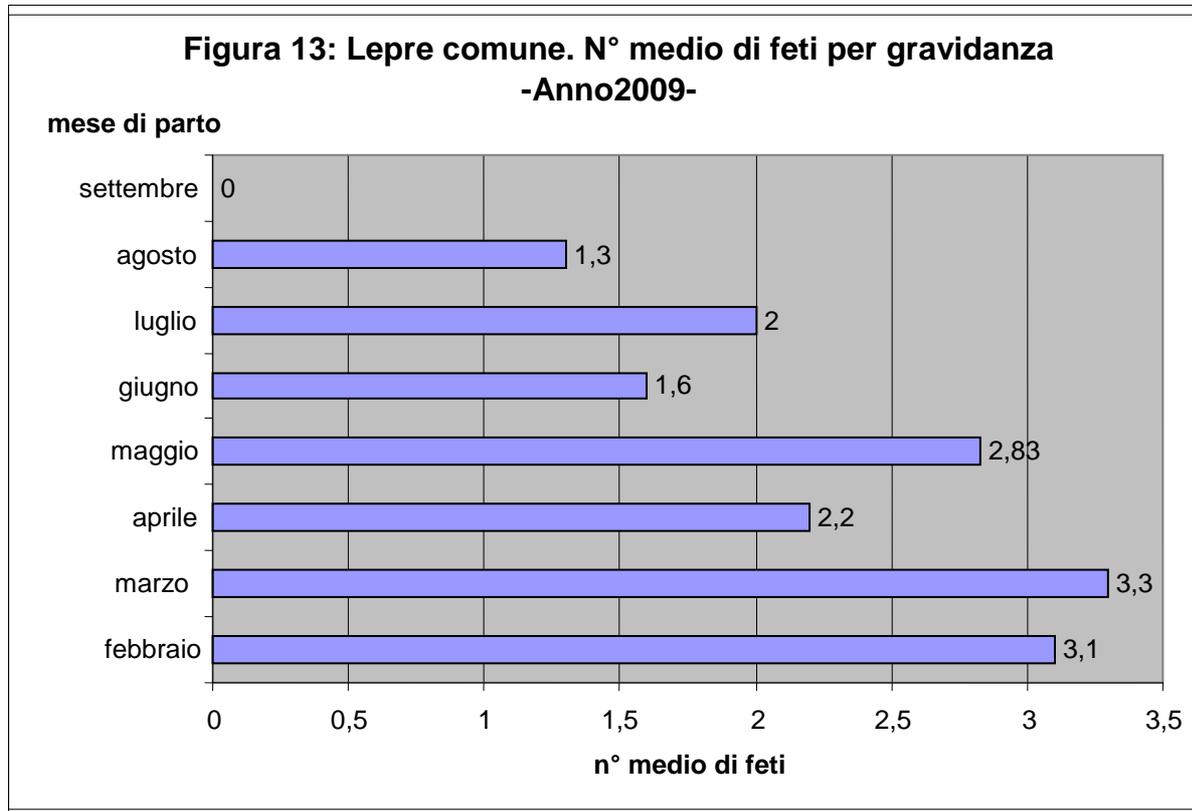


Nella figura 12 è riportato il numero medio di feti per gravidanza nell'anno 2008 distribuito nei mesi febbraio, aprile, giugno e luglio. E' evidente il numero medio di feti intorno all' 1-1,25 nei mesi febbraio, giugno e luglio. Una media di 3 feti ad aprile. Purtroppo a causa del basso numero di soggetti pervenuti il grafico risulta spoglio nei mesi di marzo, maggio, agosto e settembre.





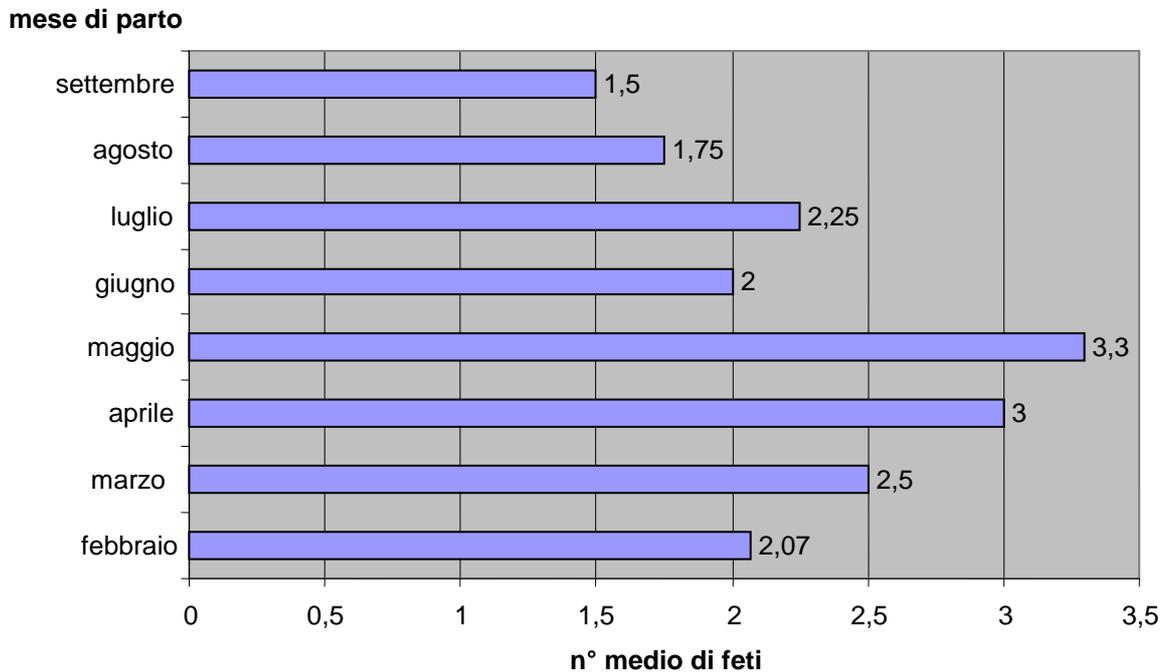
La media dei feti per mese di parto nell'anno 2009 è riportata nella Figura 13, dove si nota in febbraio, marzo e maggio con una media di feti di 3,1-3,3 e 3,8, in aprile 2,2 e maggio 2,83 con una diminuzione nei mesi giugno, luglio e agosto.



Nella figura 14 troviamo il numero medio di feti nell'anno 2010 nei mesi di febbraio, marzo, giugno e luglio intorno al 2; nei mesi aprile e maggio 3-3,3. In diminuzione ad agosto e settembre con una media di feti 1,75-1,5.

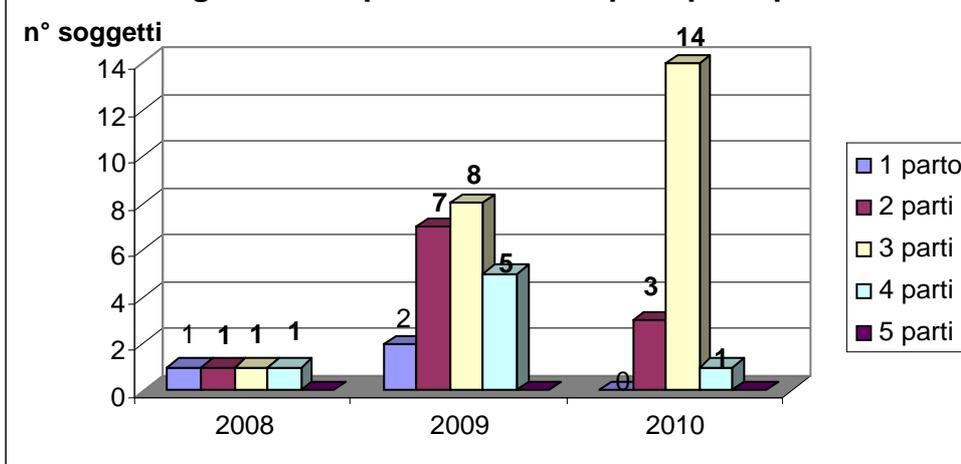


**Figura 14: Lepre comune. N° medio di feti per gravidanza  
-Anno2010-**



Riassumendo in un unico grafico (Figura 15) tutti e tre gli anni presi in esame nella mia ricerca (2008-2009-2010), posso sicuramente confermare che negli anni 2009 e 2010 si sono verificati il maggior numero di leprotti nati ed il maggior numero di lepri con più parti. Nel 2008 non ci sono stati parti a marzo, maggio, agosto e settembre e ad aprile un solo parto.

**Figura 15: Lepre comune. N° parti per lepre**

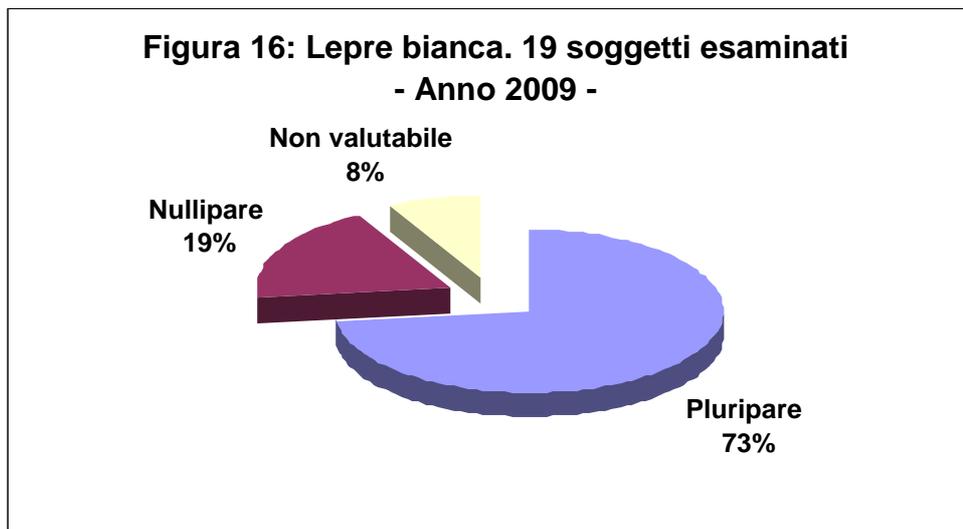


Il calcolo della media di numerosità dei feti per femmina ha portato i seguenti risultati: da 1 a 2 per il 2008; da 1 a 2,2 nel 2009; da 1 a 3 nel 2010.



Per quanto riguarda la Lepre Bianca i risultati dei miei controlli sono stati i seguenti: nella stagione venatoria 2008 non sono pervenuti uteri.

Durante la stagione venatoria 2009 è stato possibile esaminare 19 soggetti di sesso femminile di cui 5 soggetti nullipare e 2 soggetti non utilizzabili. I risultati dei controlli sono riportati nella Figura 16:



Per l'anno 2010, sono stati esaminati 7 soggetti di cui 1 soggetto nullipara, nessun non valutabile (Figura 17).

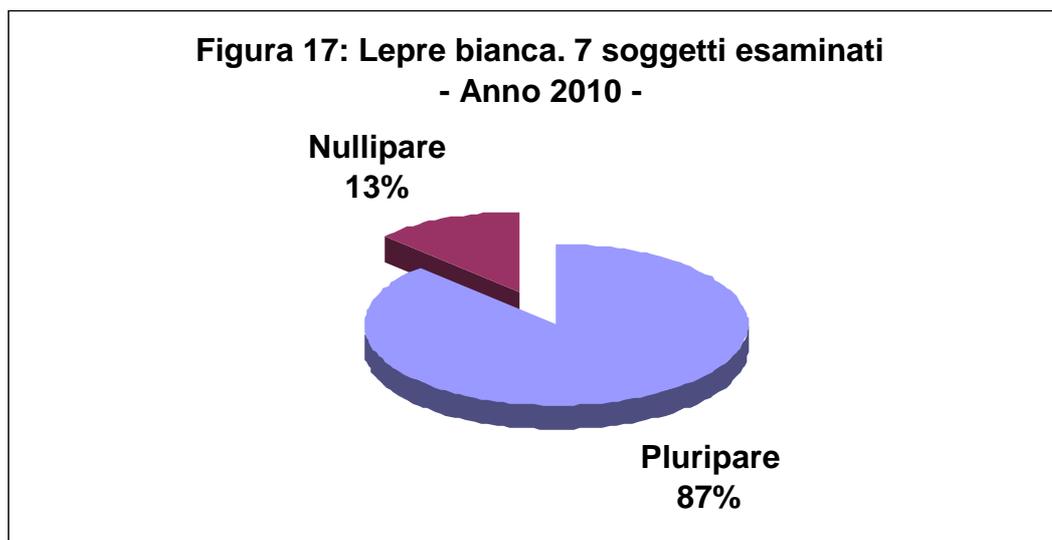




Figura 18: dal grafico si può notare un picco a marzo e un andamento di alti e bassi per quanto riguarda il numero dei parti ma picchi nel numero dei feti a marzo e maggio scemando nei mesi successivi.

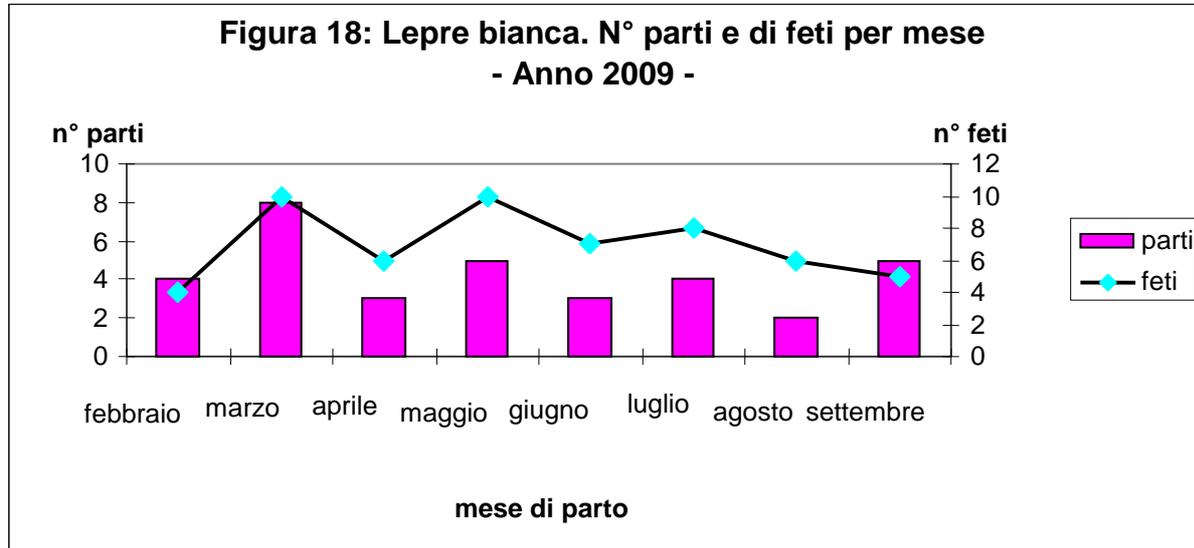
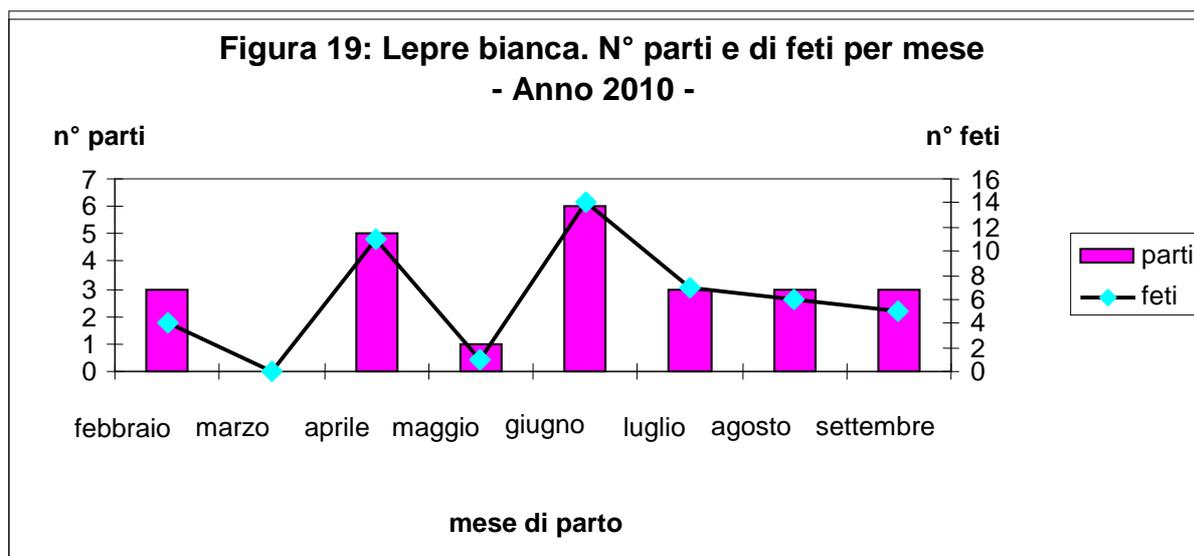
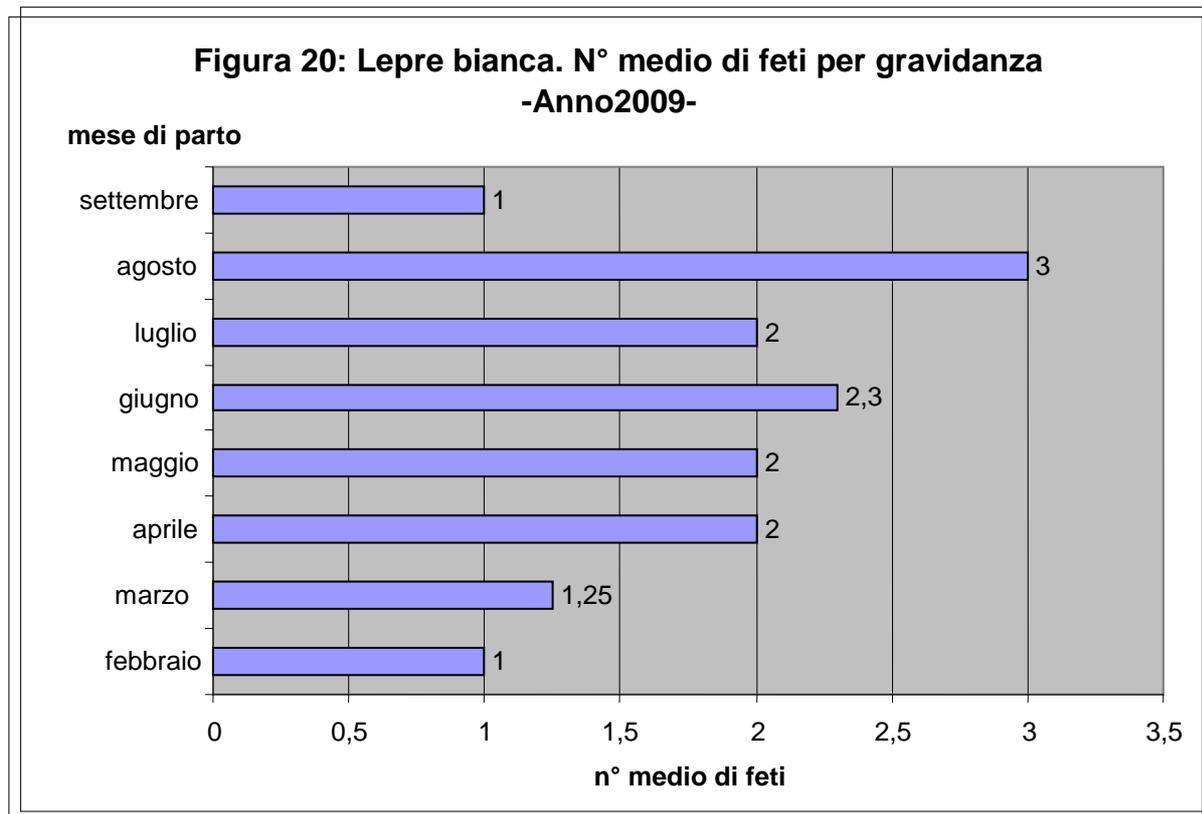


Figura 19: per l'anno 2010 sono in evidenza picchi ad aprile e giugno assumendo un andamento rettilineo nei mesi di luglio, agosto e settembre.

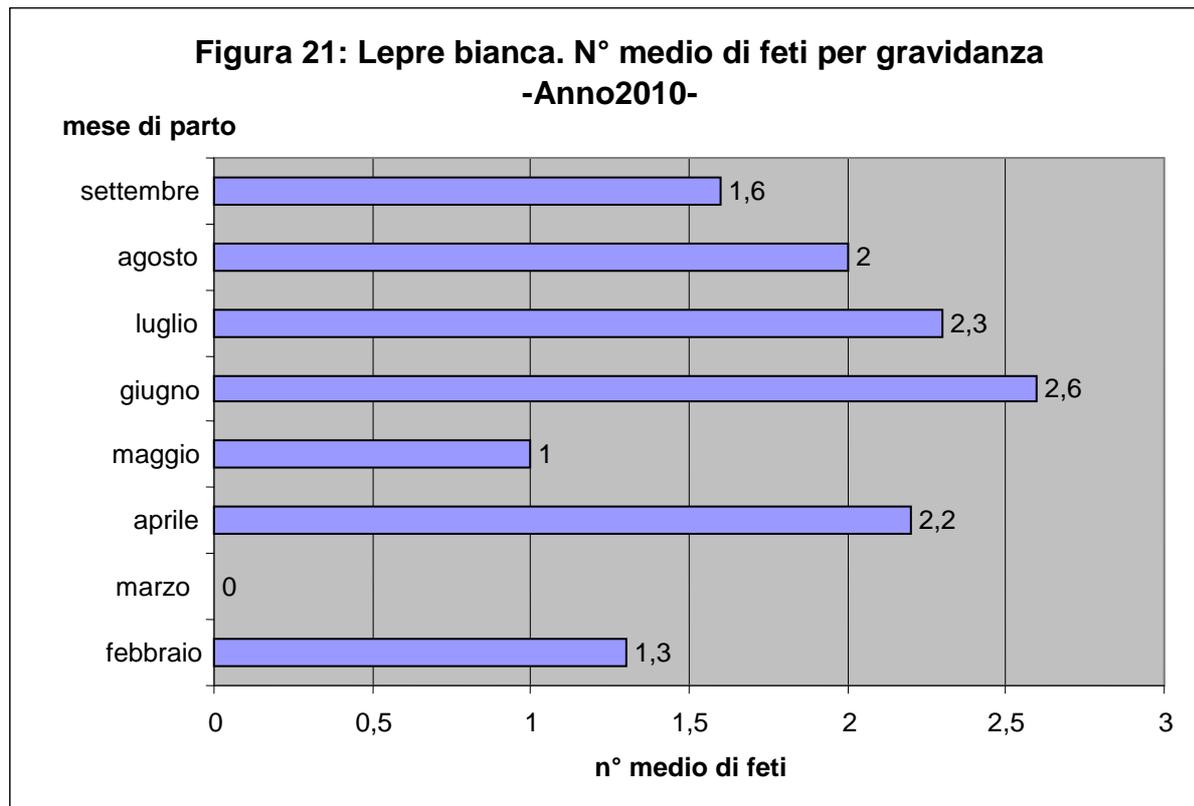




Il numero medio di feti per gravidanza nell'anno 2009 è di 1 in febbraio e settembre; 1,25 in marzo aumentando nei mesi aprile, maggio, giugno e luglio intorno al 2 e ad agosto 3, come si vede nella Figura 20.

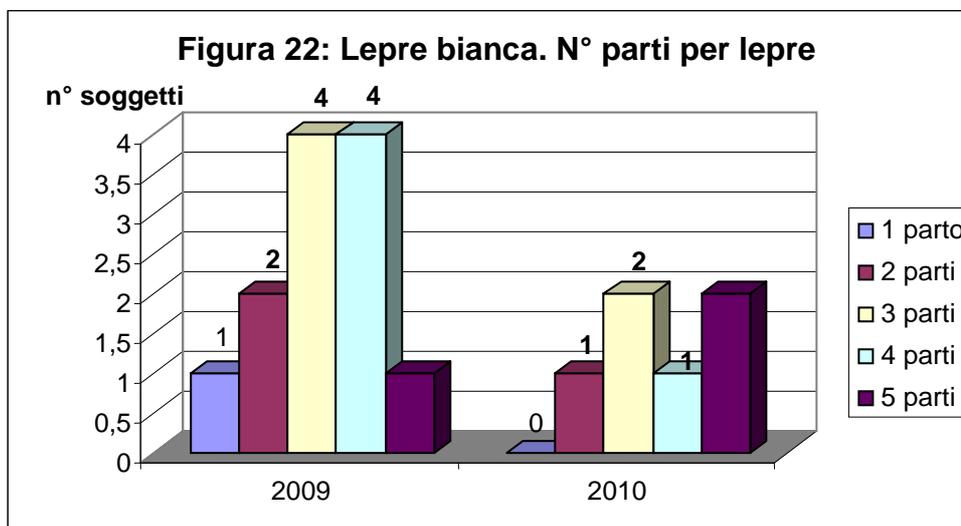


Nell'anno 2010 la stagione inizia con un numero medio di feti a febbraio di 1,3 aumentando ad aprile a 2,2 per poi scendere ad 1 nel mese di maggio. Nel mese di giugno, aumenta a 2,6 diminuendo nei mesi luglio con 2,3 feti; agosto con 2 e infine a settembre con una media di feti di 1,6 come riportato della Figura 21:



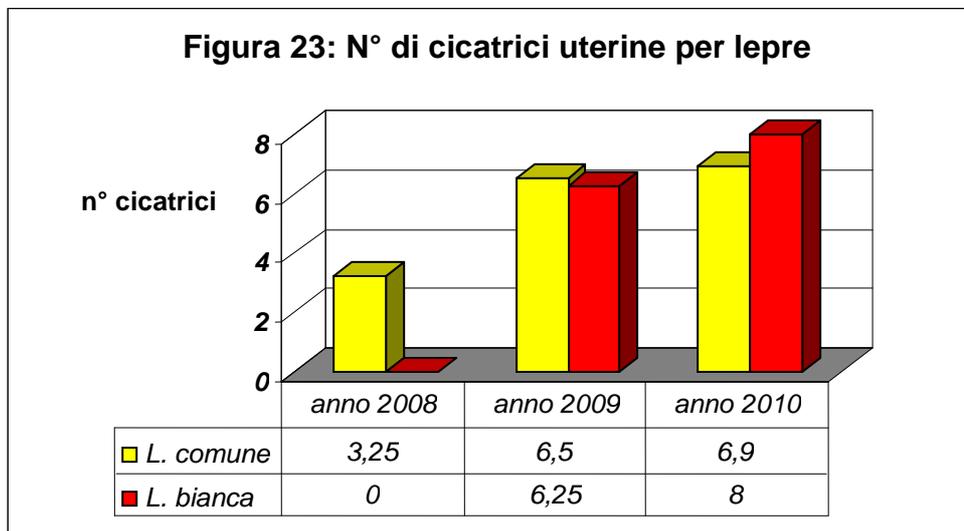
Anche per la Lepre bianca ho confrontato in un unico grafico (Figura 22) i tre anni in considerazione, nel 2008 non sono pervenuti uteri, nell'anno 2009 posso confermare la nascita di molti leprotti mentre nel 2010 non ci sono soggetti che hanno avuto un solo parto in definitiva i risultati dei parti sono stati:

Un numero medio di parti nel 2009 di 3,16 e di 3,6 nel 2010.





La Figura 23 descrive il numero medio di cicatrici uterine per lepre (sia L. comune che L. bianca) prese in considerazione per gli anni 2008-2009-2010.



## CONCLUSIONI

La Provincia di Sondrio conduce questo tipo di analisi ormai dal 2005. Queste osservazioni infatti, per dare delle indicazioni gestionali utili, dovrebbero essere prolungate negli anni e questo ha permesso di raccogliere un numero discreto di osservazioni che non trova paragoni in altre realtà nazionali.

Tutto questo non sarebbe possibile senza una stretta collaborazione, oltre che dall'Ufficio faunistico provinciale, anche da parte dei cacciatori che si sono dimostrati molto attenti e partecipi a questa ricerca.

Dott.ssa Elisa Del Maffeo

Dott. Guido Grilli