

# VALUTARE LA DINAMICA DELLA VOLPE ROSSA PER STUDIARE L'ECOLOGIA DI ZONOSI EMERGENTI

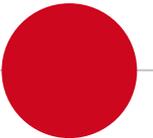
Obber Federica, Celva Roberto, Crestanello Barbara, Mazzucato Matteo, Barbujani Marco,  
Danesi Patrizia, Trevisiol Karin, Pinardi Noemi, Bregoli Marco, Dellamaria Debora, Capelli Gioia,  
Hauffe Heidi C., Citterio Carlo

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSve)- Italy;  
Fondazione Edmund Mach- Italy

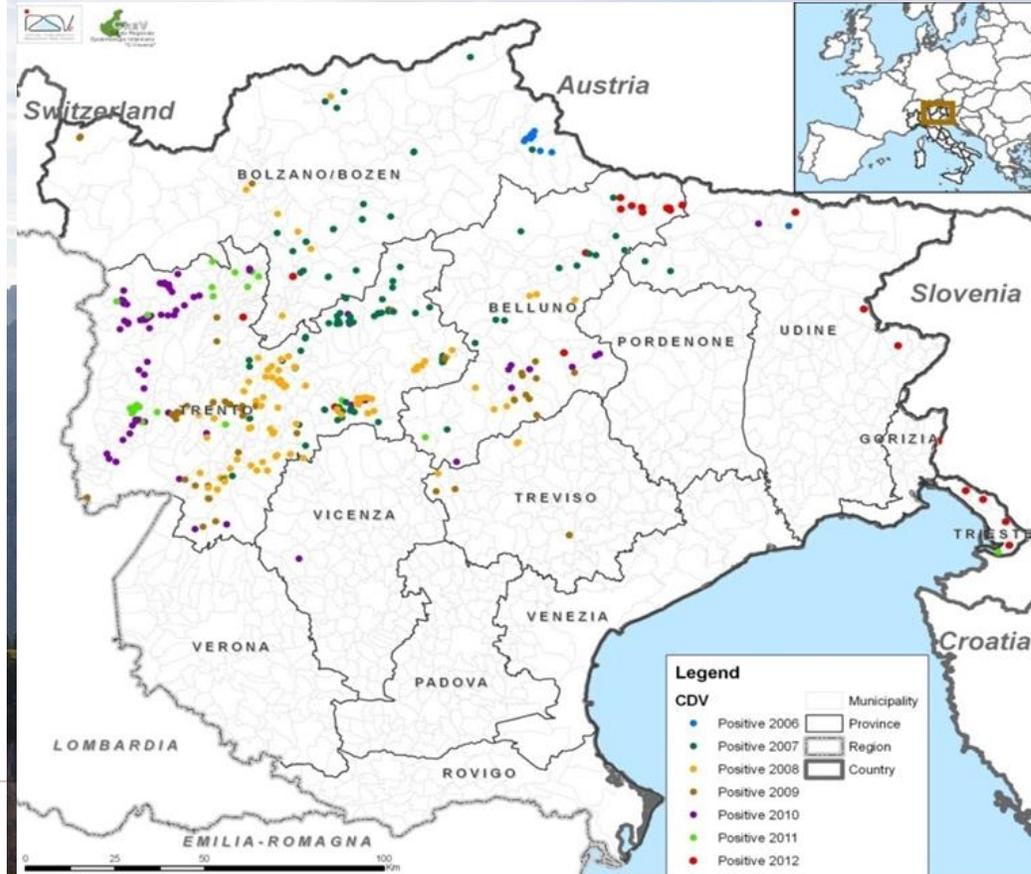
---

37èmes Rencontres du GEEFSM  
Etroubles, Vallee d'Aoste, Italia

---



L'IZSV è impegnato ormai da diversi anni nello studio e sorveglianza su malattie della volpe importanti per la conservazione della specie - Cimurro



CIMURRO 2006-2012



VOLPE,  
MUSTELIDI

# FENOMENI EPIDEMICI CICLICI

## Analisi virologiche molecolari

### Individuazione di un nuovo sottogruppo virale, recante una mutazione associata ad un aumento della virulenza

G Model  
VETMIC-5147; No. of Pages 7

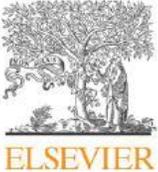
**ARTICLE IN PRESS**

Veterinary Microbiology xxx (2011) xxx-xxx

Contents lists available at ScienceDirect

**Veterinary Microbiology**

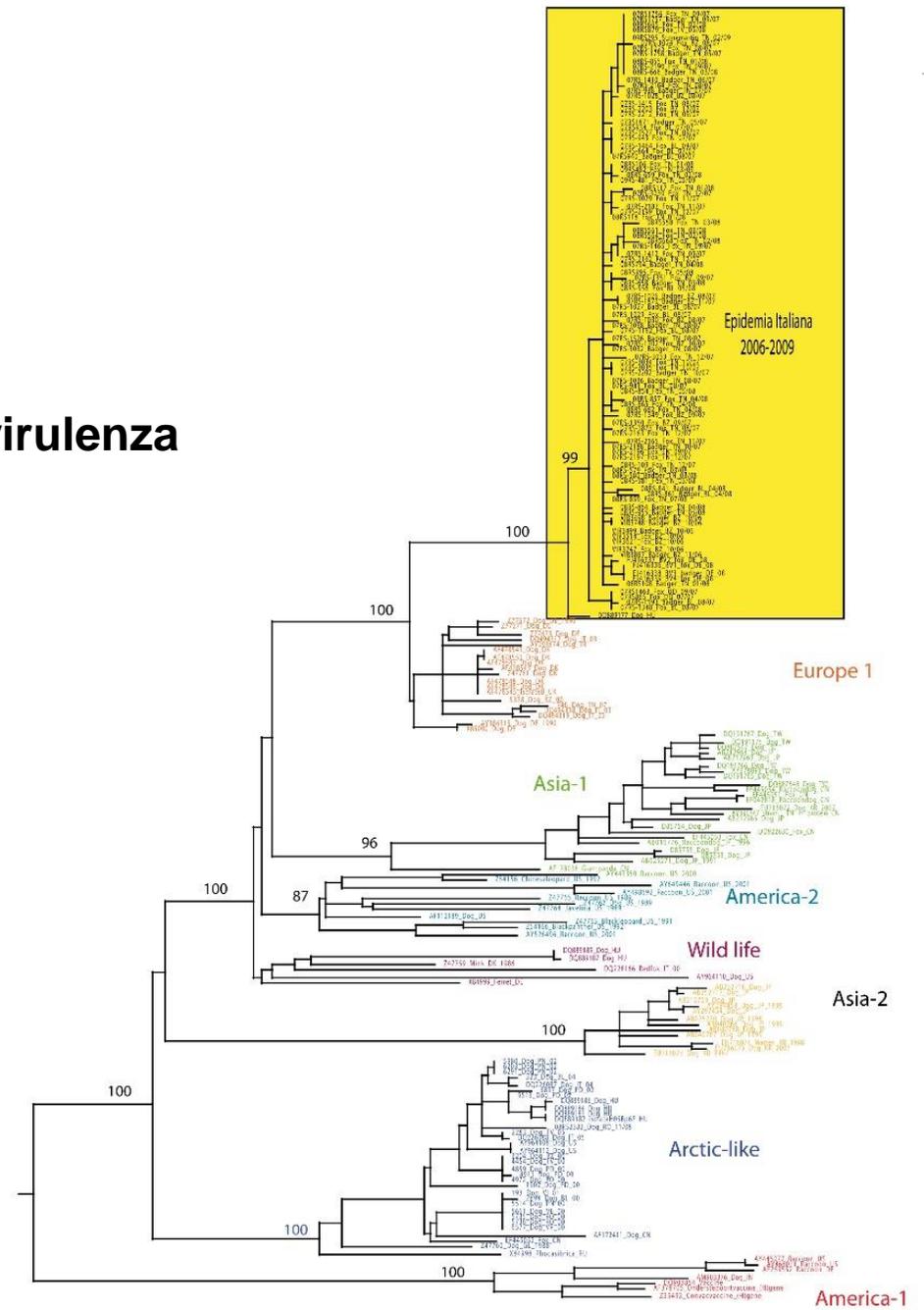
journal homepage: [www.elsevier.com/locate/vetmic](http://www.elsevier.com/locate/vetmic)



### A distinct CDV genotype causing a major epidemic in Alpine wildlife

Isabella Monne<sup>a,\*</sup>, Alice Fusaro<sup>a</sup>, Viviana Valastro<sup>a</sup>, Carlo Citterio<sup>a</sup>, Manuela Dalla Pozza<sup>a</sup>, Federica Obber<sup>a</sup>, Karin Trevisiol<sup>a</sup>, Mariapia Cova<sup>b</sup>, Paola De Benedictis<sup>a</sup>, Marco Bregoli<sup>a</sup>, Ilaria Capua<sup>a</sup>, Giovanni Cattoli<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Viale dell'Università, 10, 35020 Legnaro (PD), Italy  
<sup>b</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Via P. Rovelli, 53, 24100 Bergamo (BG), Italy



## Re-emerging of canine distemper virus (CDV) in red fox (*Vulpes vulpes*) populations of Friuli-Venezia Giulia

M. BREGOLI<sup>1</sup>, C. CITTERIO<sup>1</sup>, A. CADAMURO<sup>2</sup>, F. OBBER<sup>1</sup>, A. BIANCO<sup>1</sup>, A. SCHIVO<sup>1</sup>, M. SELLO<sup>1</sup>, G. DI SOPRA<sup>1</sup>, G. DE ZAN<sup>1</sup>, M. COCCHI<sup>1</sup>, I. MONNE<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie. e-mail: mbregoli@izsvenezie.it

<sup>2</sup>Regione Autonoma Friuli Venezia Giulia



P208

**Introduction** Red fox (*Vulpes vulpes*) populations of NE Italy have faced different disease epizootics during the last decade. Canine distemper virus (CDV) is a highly contagious Morbillivirus of the Paramyxoviridae family that affects wild and domestic carnivores. Clinical signs vary according to species but frequently include neurological symptoms and behavior disruption leading to lack of fear to humans and favoring interactions with domestic animals and human enclosures. We focused on the evolution and spread of CDV in foxes during the period 2010–2018, after a major CDV epidemic occurring since 2006 that expanded from eastern to western Alps and subsequently rabies epizootic of 2008–2011.

**Methods** Fox populations estimates and hunting bags were regularly recorded from a Regional database. Opportunistic collection of 2319 found dead foxes in the frame of rabies surveillance and research projects were considered for the study of CDV along with general passive surveillance data. Viral RNA was extracted from brain samples and a one-step RT PCR was performed. Foxes hunted and culled for rabies vaccination monitoring or for population control purposes were excluded from this study.

**Results** In the Friuli-Venezia Giulia Region fox abundance decreased from almost 6000 counts in 2010 during rabies outbreak, to 4500 in 2015 and this level was maintained during the last three years. A minor CDV spread was recorded in our Region between

2012 and 2013 (27% and 18% of prevalence, respectively). The virus outwardly almost disappeared in the following years, with a prevalence range of 0–0.7% until 2017, when 6% prevalence of cases clustered in the last months of the year. Since January 2018 a sudden increase of clinical cases was recorded and CDV prevalence reached a peak of 46% (39 cases until February).

**Discussion** This study evidenced re-emergence and periodicity of CDV epizootics in red foxes populations, in accordance with previous studies in other carnivores such as raccoons (*Procyon lotor*). Interestingly, ahead of foxes abundance reduction, carnivores richness increased during the last decade with the range expansion of golden jackals (*Canis aureus*), raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) and recent presence of wolves (*Canis lupus*); all of these species are sensible to CDV infection, thus enhancing conservational issues. Further insights may derive from phylogenetic analysis of current strains and their similarity with previous CDV epidemics. It appears to be crucial a continuous monitoring of foxes populations and to study the impact of the ongoing epizootic in the ecology of red foxes and on the occurrence and dynamics of zoonotic diseases, notably echinococcosis and trichinellosis.

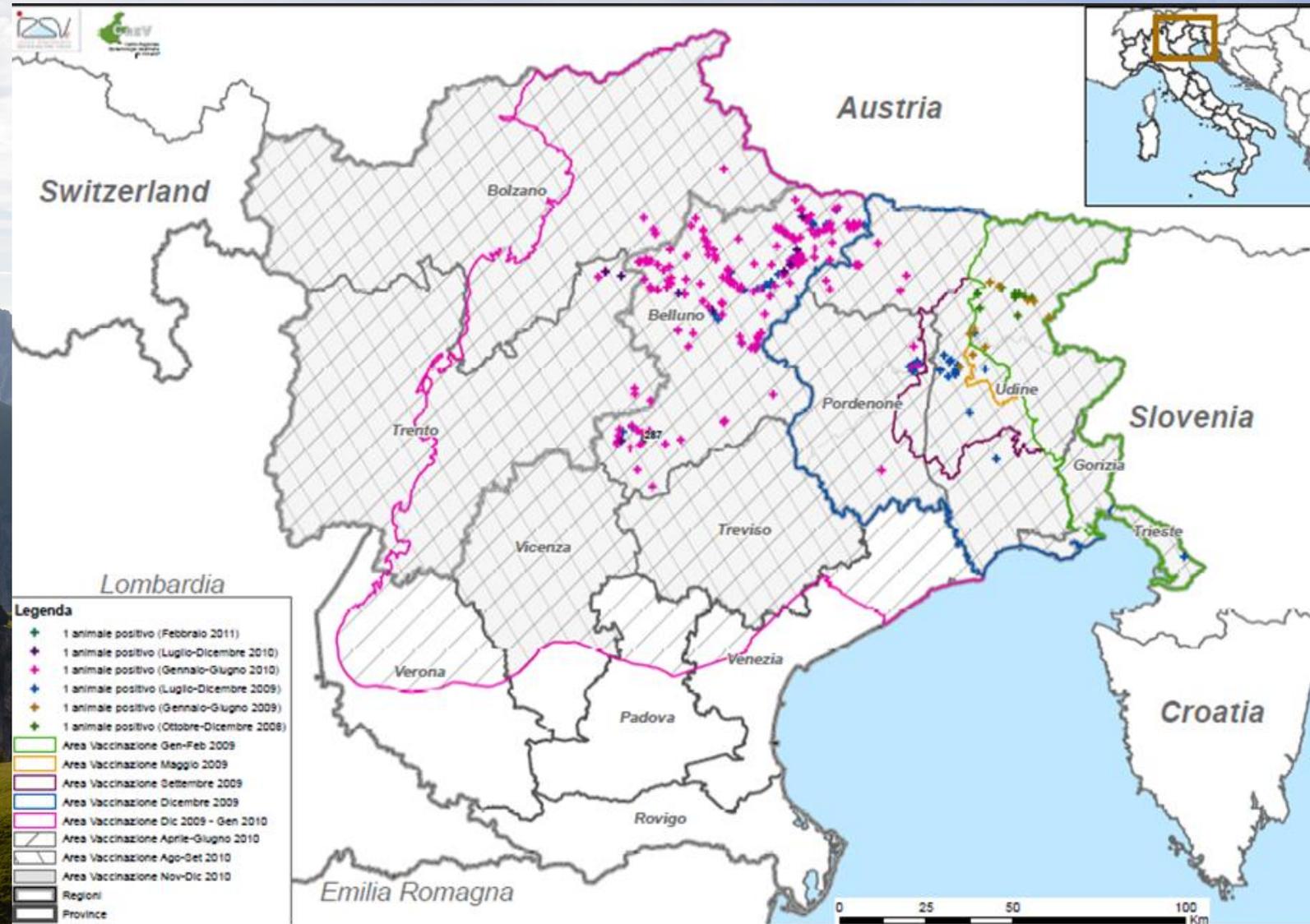
This work was funded by the Italian Ministry of Health (project codes: RC IZSVe 07/08, RC IZSVe 06/09 and current RC IZSVe 18/16).

## FENOMENO EPIDEMICO CICLICO

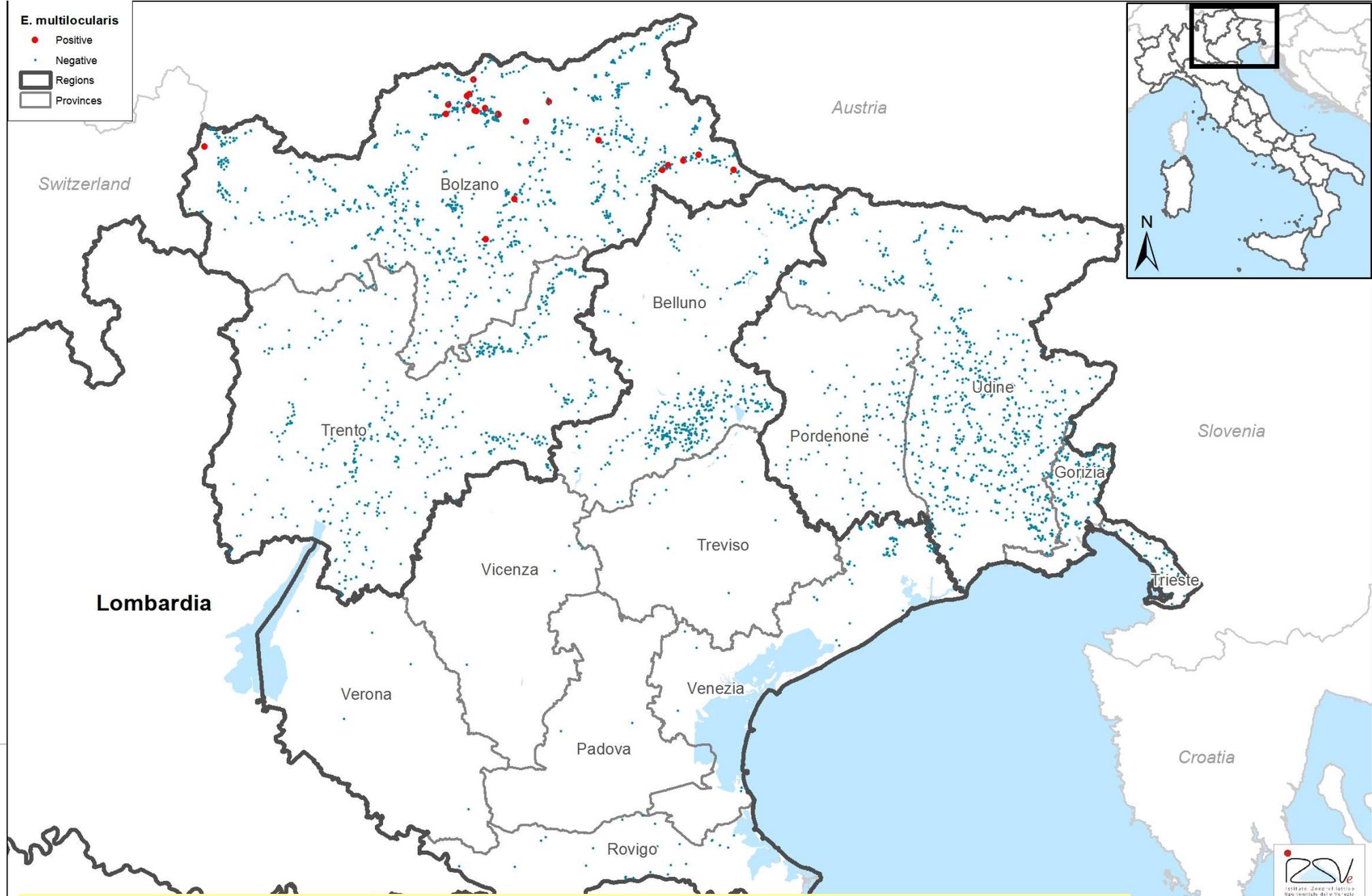
Dai primi mesi del 2018, tramite la sorveglianza passiva (animali morti consegnati alle autorità sanitarie competenti), si sta registrando un incremento di positività per cimurro nelle volpi.

I primi casi si sono osservati in Friuli Venezia Giulia, e in un breve lasso di tempo la malattia è stata osservata anche in altre aree del Triveneto, come il Bellunese, l'Alto Adige ed il Trentino. Oltre che nelle volpi, diversi casi sono stati osservati anche nei tassi.

EPIDEMIA  
DI RABBIA 2008-2011  
ERADICATA  
VACCINAZIONE  
ITALIA INDENNE



**E. multilocularis**  
● Positive  
● Negative  
▭ Regions  
▭ Provinces



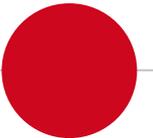
**Echinococcosi  
Alveolare  
*E. multilocularis***

**FOCOLAIO  
AUTOCTONO E  
PERSISTENTE  
A PARTIRE  
PRIMI ANNI  
2000**

**PROVINCIA DI  
BOLZANO**

**SORVEGLIANZA SANITARIA 2012-2017**

- Necessaria ai fini della sorveglianza una migliore conoscenza della dinamica della popolazione di volpe
- Scarso interesse venatorio e pochi dati disponibili presso Enti faunistici
- Necessario un metodo semplice d'applicare e a basso costo in modo tale da essere utilizzato negli anni per valutare almeno il trend della popolazione
- A partire dal 2010, in collaborazione con Enti faunistici si è iniziato ad utilizzare un indice, l'indice chilometrico di abbondanza (IKA) avvistamento di volpi tramite utilizzo dei censimenti primaverili al cervo su transetti predefiniti
- Necessaria validazione con indagini più specifiche per la volpe



L'analisi di questi conteggi primaverili, effettuata inizialmente in Provincia di Belluno e poi attuata in altre aree (Tn e BZ) ha evidenziato una sensibilità di questi indici a decrementi e incrementi significativi nella popolazione quali quelli causati da importanti epidemie come rabbia e cimurro

Published by Associazione Teriologica Italiana

Online first – 2018

OPEN ACCESS

Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy

Available online at:

<http://www.italian-journal-of-mammalogy.it>

doi:10.4404/hystrix-00048-2018



Research Article

## Exploring the use of red fox (*Vulpes vulpes*) counts during deer censuses as a tool to evaluate the fox population trend in the framework of disease surveillance

Federica OBBER<sup>1</sup>, Katia CAPELLO<sup>2</sup>, Paolo MULATTI<sup>2</sup>, Monica LORENZETTO<sup>2</sup>, Stefano VENDRAMI<sup>3</sup>, Carlo Vittorio CITTERIO<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie - SCT2 Belluno, U.O. Eco-pathology. Via Cappellari 44/a – 32100 Belluno – Italy

<sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie – SCS4 Veterinary Epidemiology. Viale dell'Università 10 – 35020 Legnaro (PD) – Italy

<sup>3</sup>Provincia di Belluno – Wildlife Management Office – via S. Andrea 5 – 32100 Belluno – Italy

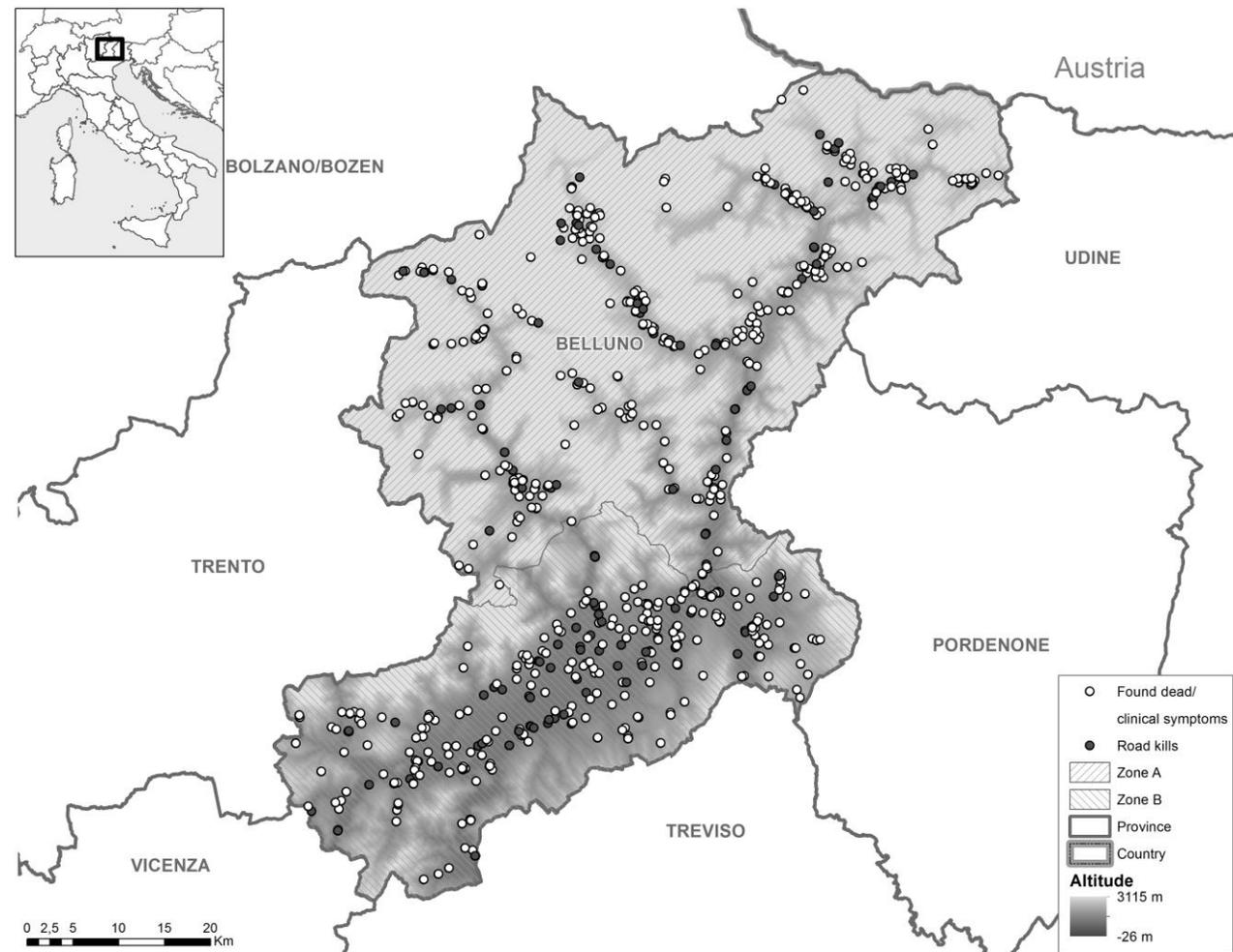
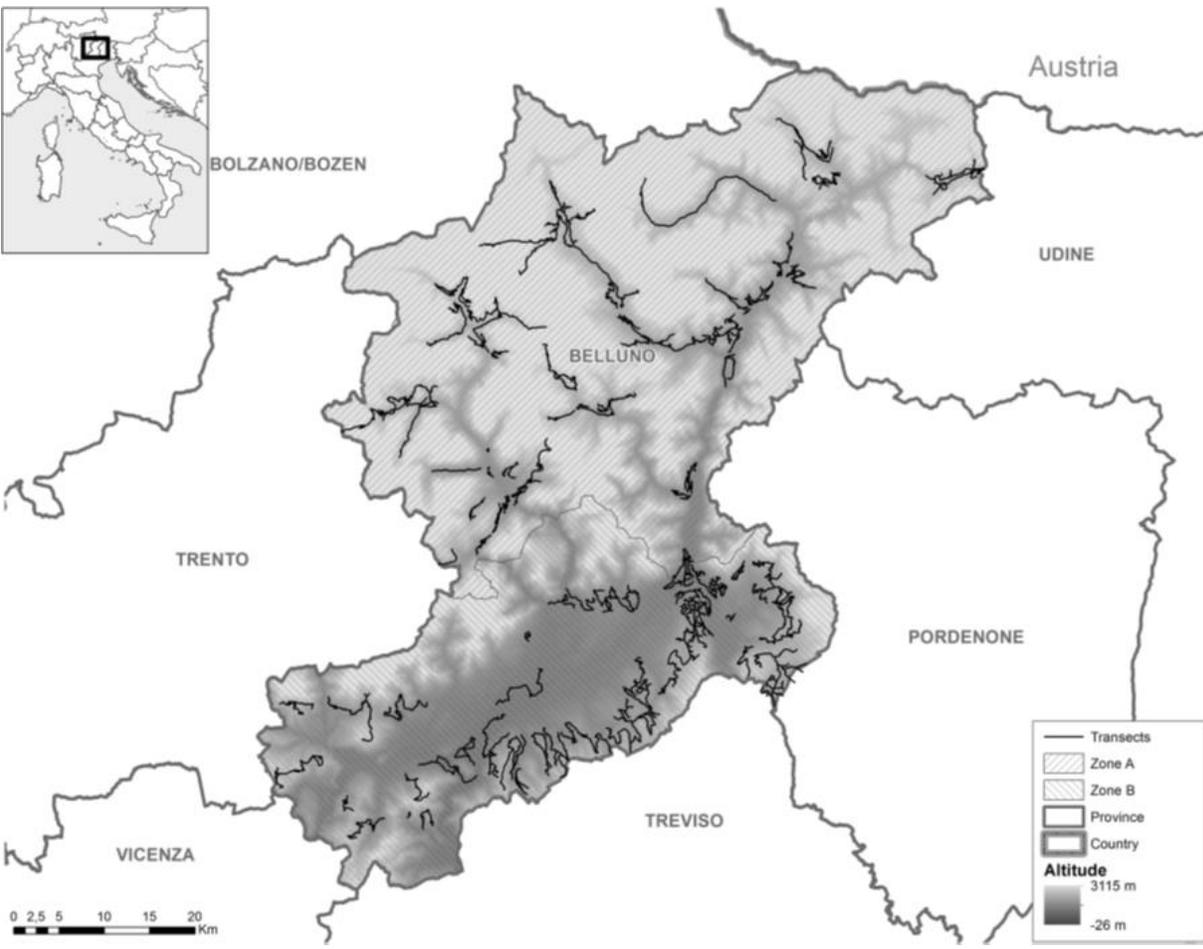
Keywords:

red fox  
count

Abstract

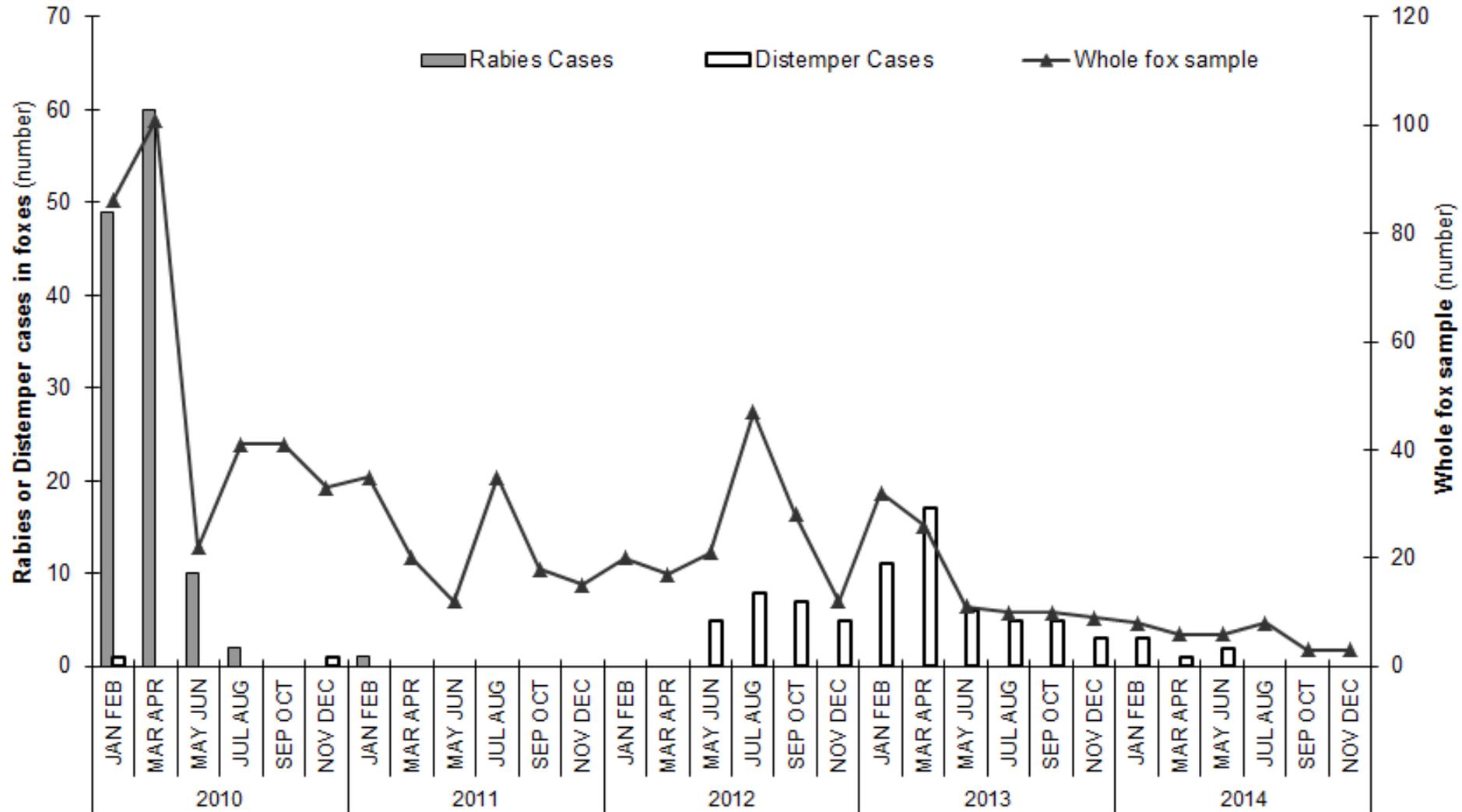
Improving the knowledge on the distribution and status of the wild populations is desirable to inform

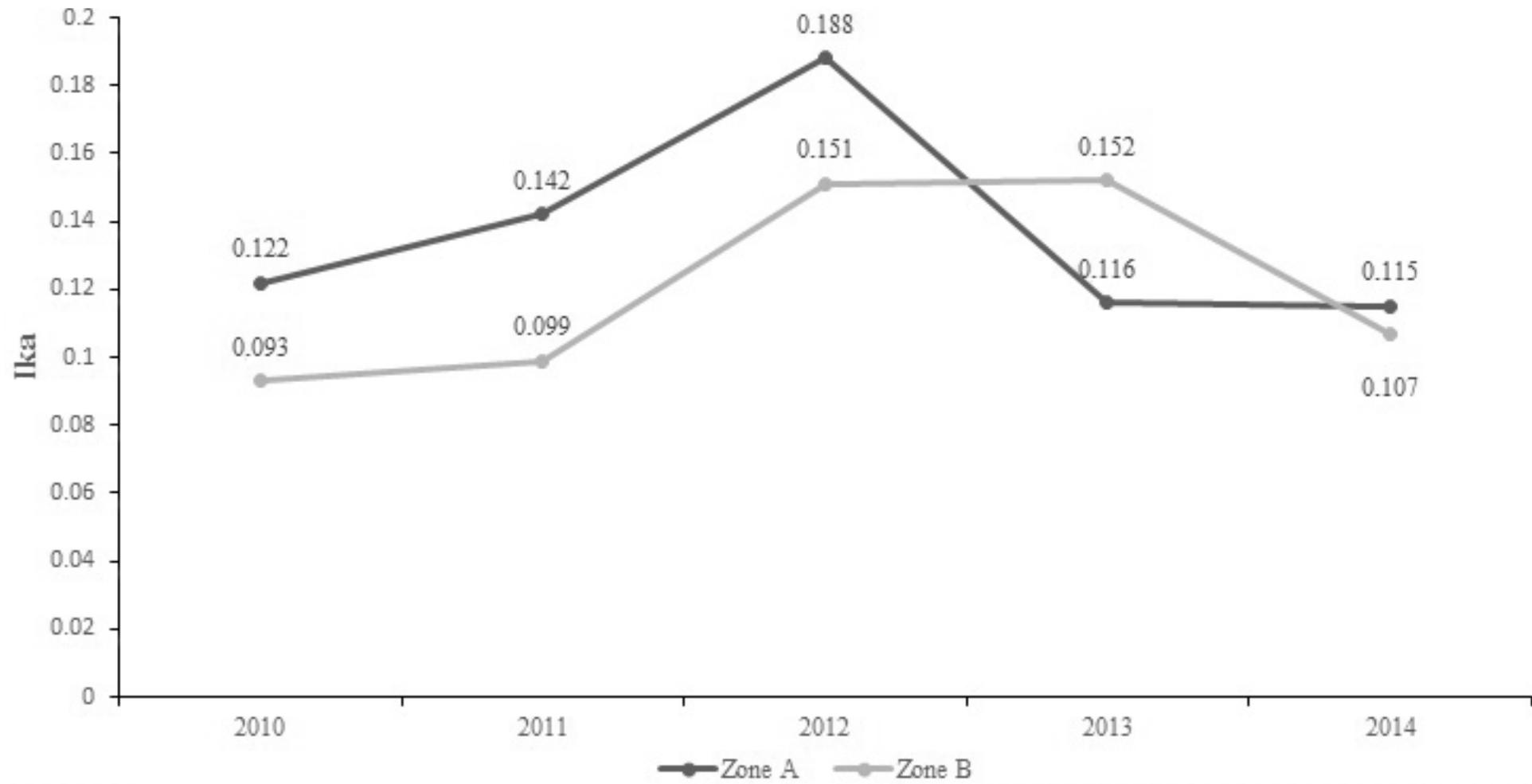
# IKA e sorveglianza sanitaria





# Rabies & Distemper





Tuttavia il metodo necessita di una validazione con metodi più specifici applicabili su scala locale

## PROGETTO DI RICERCA CORRENTE

N. identificativo progetto: IZS VE 03/11 RC

Progetto presentato da:

**Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie**

Unità operativa coordinatrice:

**SCT5 – Sezione di Trento**

Titolo del progetto:

**Valutazione della presenza e della prevalenza di *Echinococcus multilocularis* nel nord-est d'Italia.**

Tabella 5 Campionamento previsto ed effettuato dalla RC 11/13 con relativa prevalenza

| REGIONE                  | PROVINCIA | PREVALENZA<br>ATTESA | CAMPIONAMENTO<br>PREVISTO | CAMPIONAMENTO<br>EFFETTUATO |
|--------------------------|-----------|----------------------|---------------------------|-----------------------------|
| Friuli-Venezia<br>Giulia | Gorizia   | 1%                   | 294                       | 642                         |
|                          | Pordenone |                      |                           |                             |
|                          | Udine     |                      |                           |                             |
|                          | Trieste   |                      |                           |                             |
| Trentino-Alto<br>Adige   | Bolzano   | 13%                  | 174                       | 473                         |
|                          | Trento    | 3%                   | 280                       | 295                         |
| Veneto                   | Belluno   | 1%                   | 294                       | 98                          |
| <b>Totale</b>            | -         | -                    | 1042                      | 1508                        |

SORVEGLIANZA ATTUATA IN RELAZIONE ATTIVITA' DI VACCINAZIONE PER ERADICAZIONE DA RABBIA

## Progetto di Ricerca Corrente IZS VE 18/16 RC

### Titolo del progetto:

Studio dell'ecopatologia delle principali zoonosi correlate ai carnivori selvatici nel Nordest italiano, con applicazione di un metodo di sorveglianza integrato

Ricerca Finanziata dal Ministero della Salute

Direzione Generale della Sanità Animale e dei Farmaci

Veterinari - Ufficio II -

Area tematica: SANITÀ ANIMALE

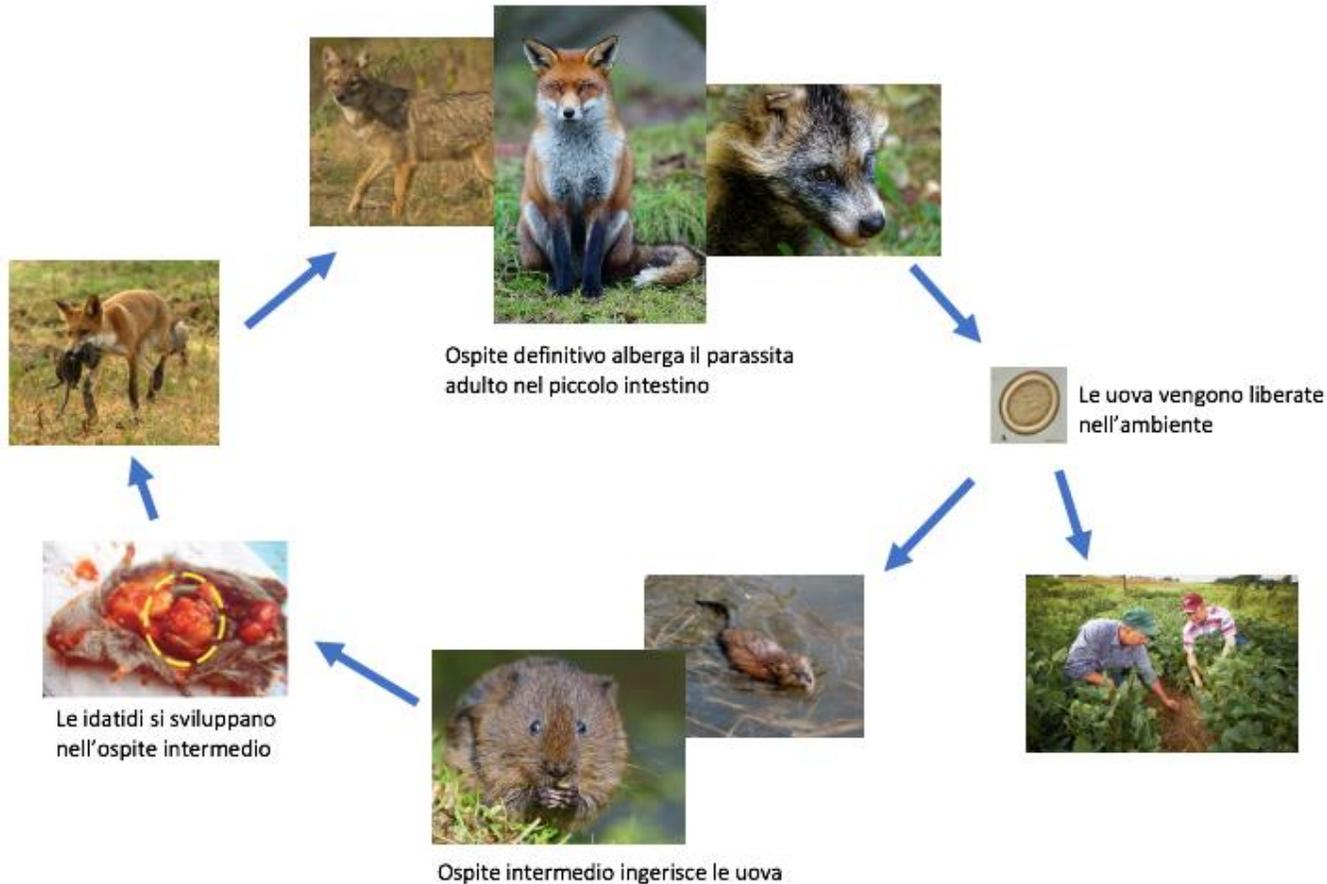
RABBIA

ECHINOCOCCOSI

(*E.Multilocularis*)

TRICHINELLOSI

## E. Multilocularis - Ciclo



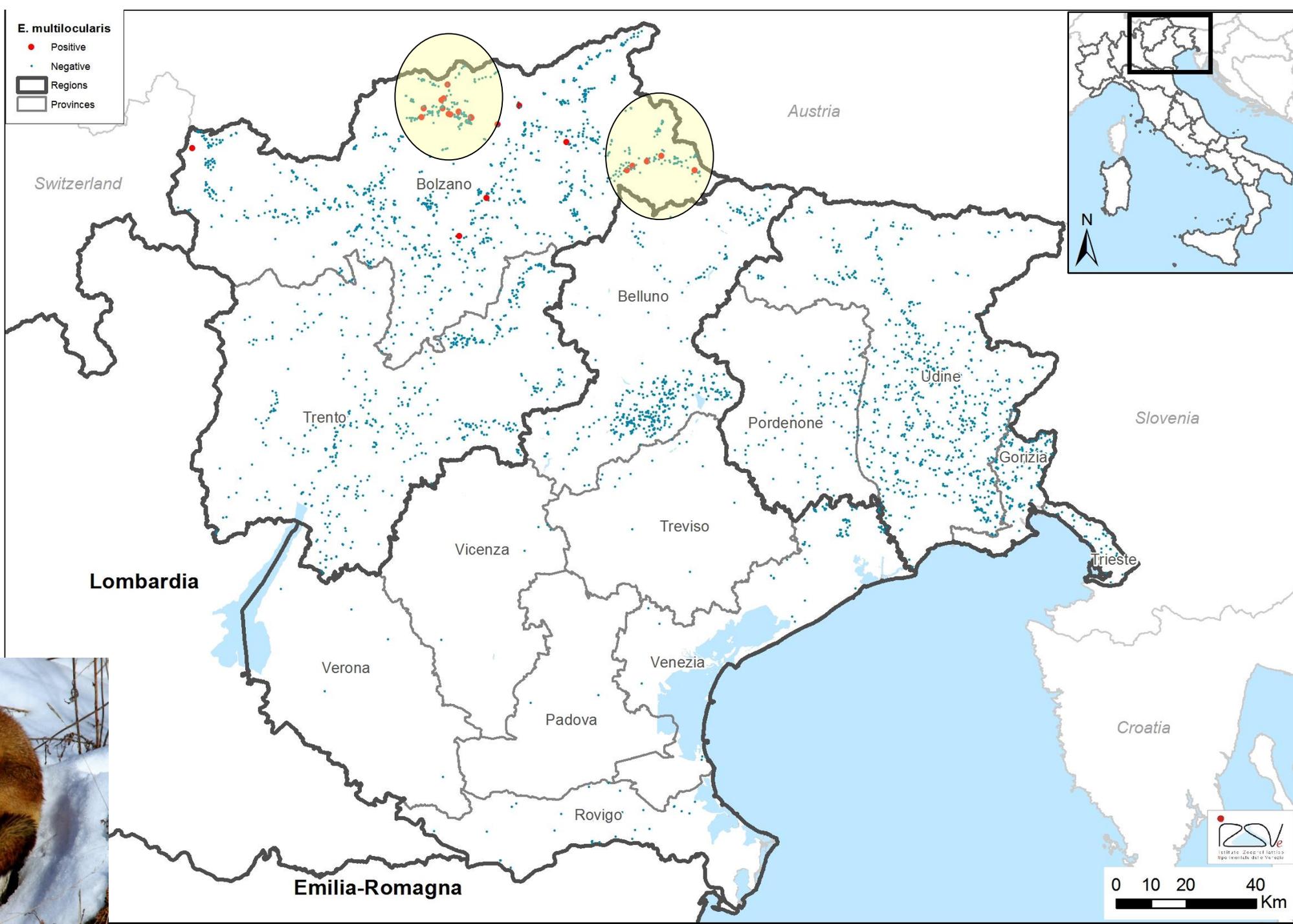
- *E. Multilocularis* parassita che di fatto non causa alcuna mortalità nell'ospite definitivo
- La cui presenza appare molto legata alle caratteristiche della biocenosi anche su piccola scala,
- Necessario un approccio analitico più fine alla dinamica di popolazione
- A questo scopo acquisire informazioni su scala locale riguardo agli ospiti definitivi (volpe) e intermedi (piccoli roditori) oltre all'ambiente risulta indispensabile

# SORVEGLIANZA ECHINOCOCCOSI

2012-2017

FOCOLAIO  
RACINES  
VAL PUSTERIA

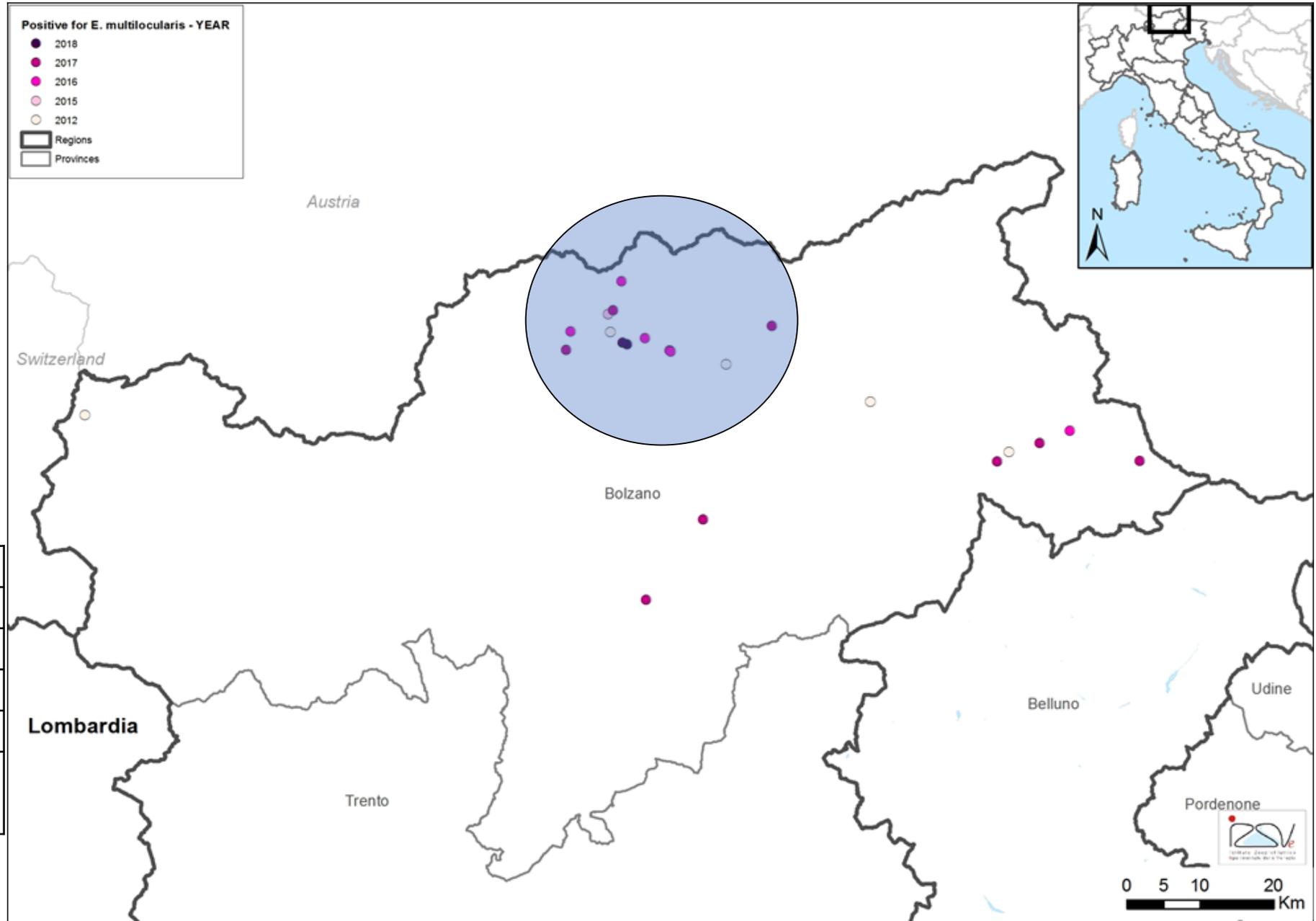
Quali fattori?



# *E. Multilocularis* – Analisi di laboratorio

- L'analisi per la ricerca di uova di *E. multilocularis* è stata effettuata sulle feci delle volpi, prelevate in sede di necropsia.
- Il materiale prelevato, prima di essere analizzato è stato sottoposto ad un passaggio a  $-80^{\circ}\text{C}$  per almeno 72 ore al fine di inattivare le forme infestanti, e poi conservato a  $-20^{\circ}\text{C}$  fino all'esecuzione delle analisi.
- Dopo scongelamento overnight, sono stati prelevati 1-2 grammi di materiale fecale, in funzione della disponibilità, successivamente sottoposti ai seguenti passaggi:
  - i) esame coprologico qualitativo con soluzione a peso specifico 1,3 (densità di 1,3 gr/ml);
  - ii) isolamento delle uova di Taeniidae attraverso metodica di concentrazione, flottazione con soluzione di cloruro di zinco ( $\text{ZnCl}_2$ ) con peso specifico di 1,45 (densità 1,45 gr/ml) e successiva filtrazione;
  - iii) identificazione delle uova di cestodi identificati mediante multiplex PCR con target, Taeniidae spp., *E. granulosus* e *E. multilocularis* (Trachsel *et al.*, 2007);
  - iv) sequenziamento dei campioni positivi utilizzando ABI Prism BigDye Terminator v3.1 cycle sequencing kit (Applied Biosystem, Foster City, CA-USA) e analisi di omologia tramite il programma Blast dell'NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) con le sequenze depositate in banca dati GenBank.





| ANNO | positive | esaminate | %     |
|------|----------|-----------|-------|
| 2012 | 5        | 473       | 1,05  |
| 2014 | 0        | 48        | 0,00  |
| 2015 | 1        | 67        | 1,49  |
| 2016 | 6        | 103       | 5,83  |
| 2017 | 8        | 178       | 4,49  |
| 2018 | 2        | (13)      | ..... |

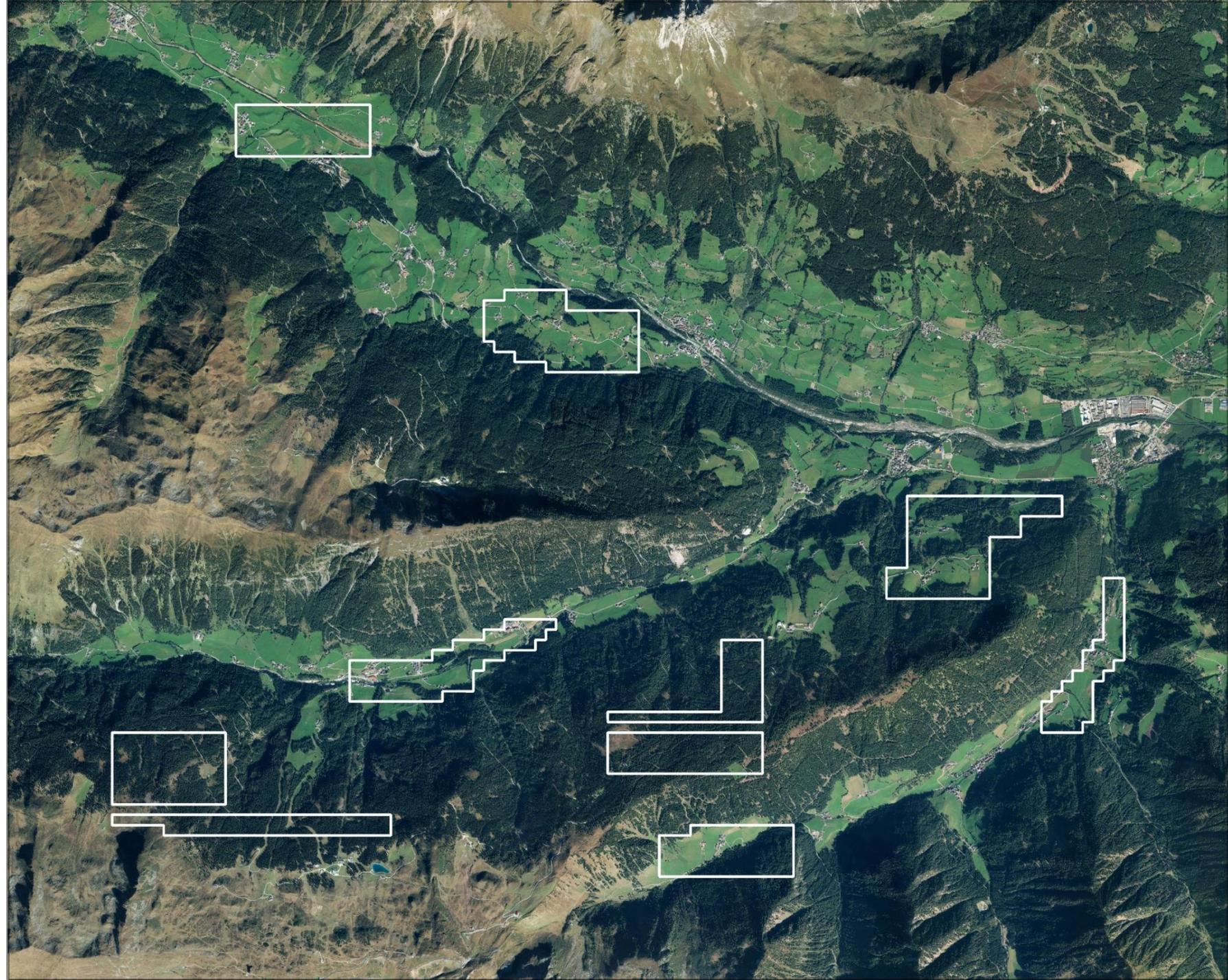
# Metodi di genetica di popolazione

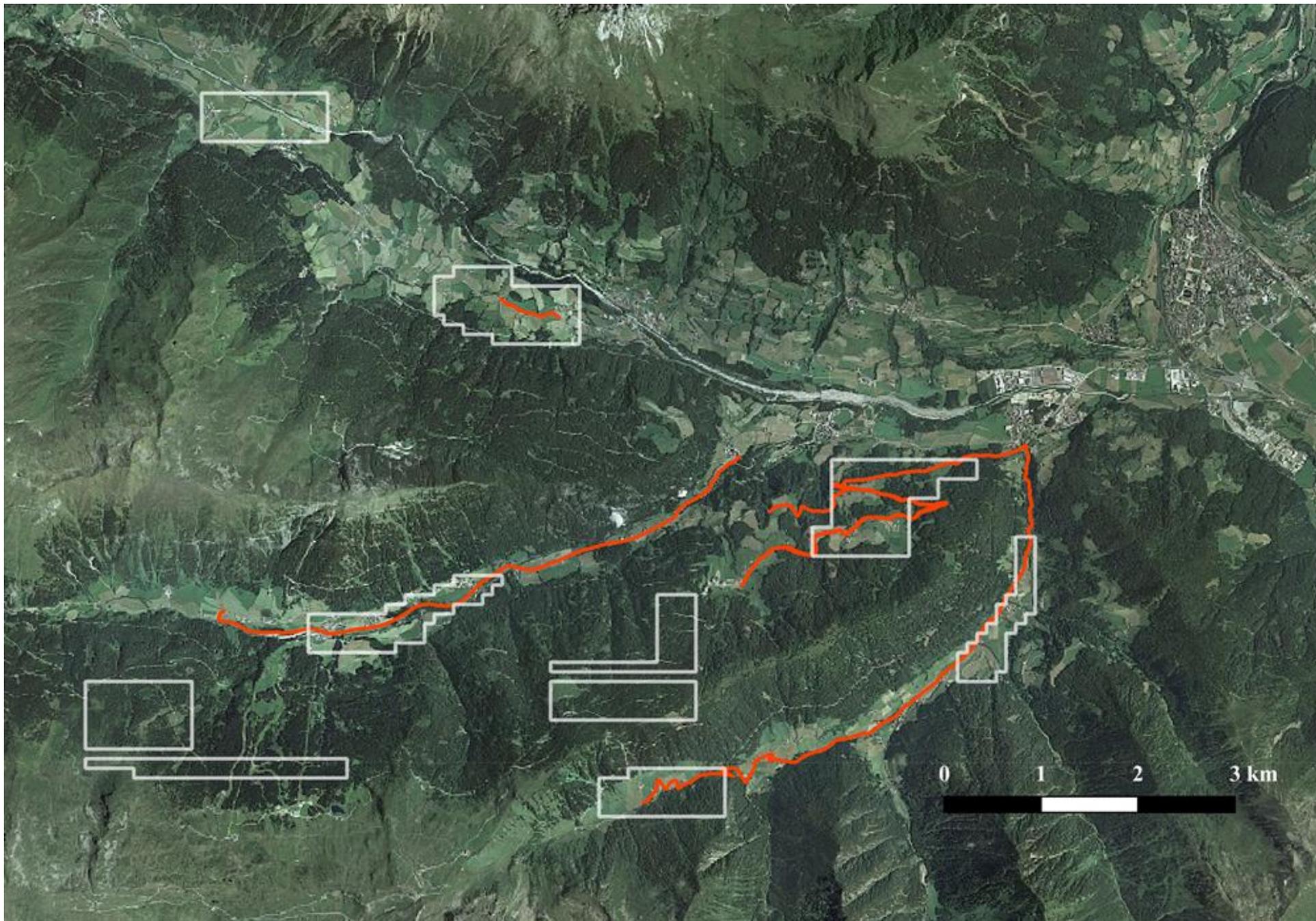
- In collaborazione con la Fondazione Edmund Mach
- Metodi di genetica di popolazione basati su marcatori molecolari su feci di volpe raccolte in campo
- Protocolli cattura-ricattura
- Analisi parassitologiche
- Validare i dati più “grezzi” indice di abbondanza che hanno il vantaggio di essere raccolti con continuità
- Primi campionamenti nel focolaio di *E.Multilocularis*
- 2018 – Prima campagna di campionamento
- 2019 – Seconda campagna di campionamento

**CAMPIONAMENTO (19/06 –  
31/07/2018)**  
**VAL RIDANNA- VAL  
RACINES**

- 8 zone campionate uniformemente (671 ha, 83 km)
- 1 zona/gg
- 3 uscite

Raccolta feci in 2 aliquote  
(analisi genetica/parassitologica)





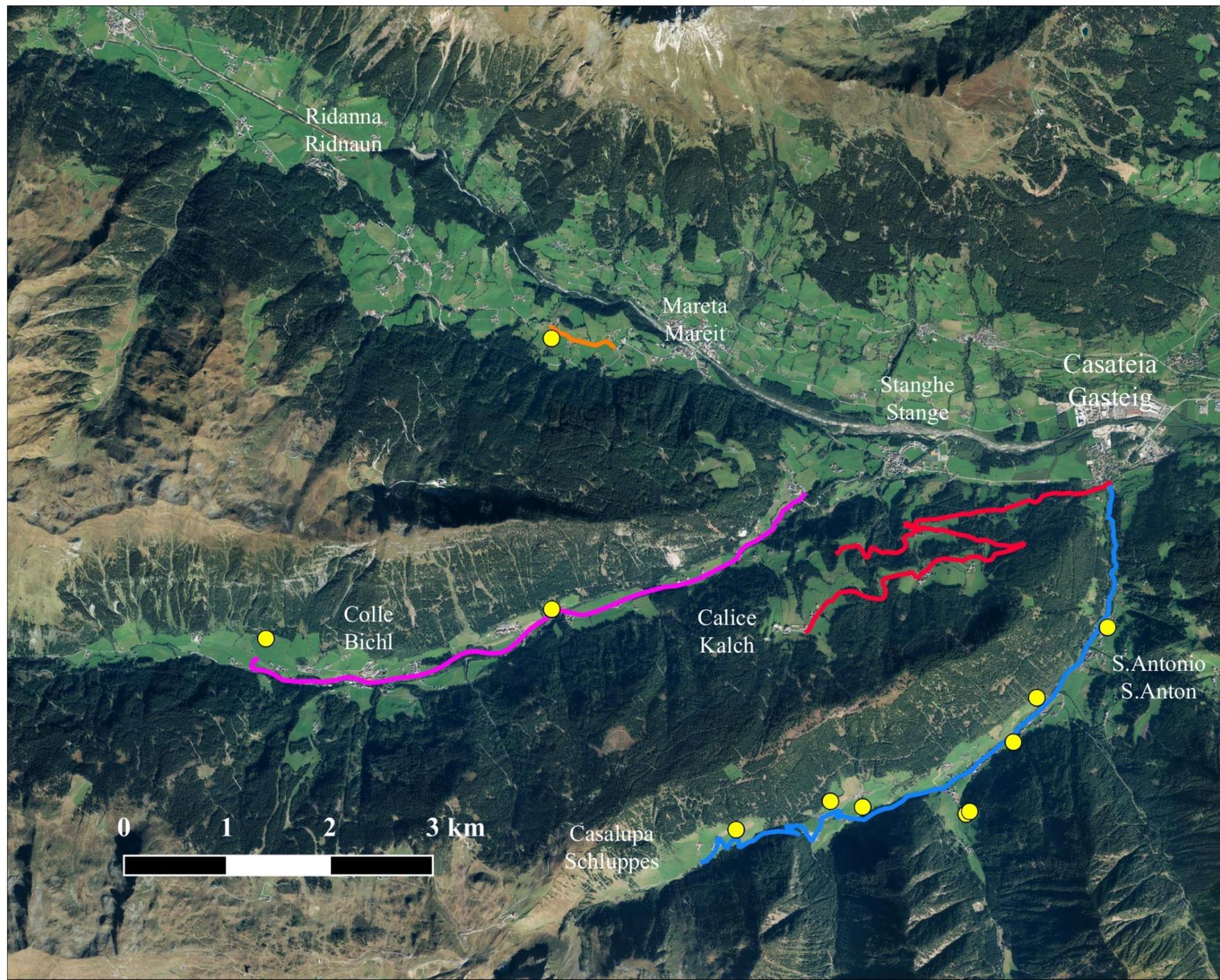
IKA  
4 aree

# CENSIMENTO AL FARO

(RACINES)

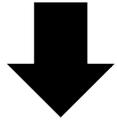
12/04/2018

|  | <b>Lunghezza<br/>(Km)</b> | <b>IKA</b>   |
|--|---------------------------|--------------|
|  | 0,879                     | 1,14         |
|  | 6,220                     | 0,32         |
|  | 7,191                     | 0            |
|  | 7,132                     | 1,12         |
| <b>TOT</b>   | <b>21,442</b>             | <b>0,510</b> |



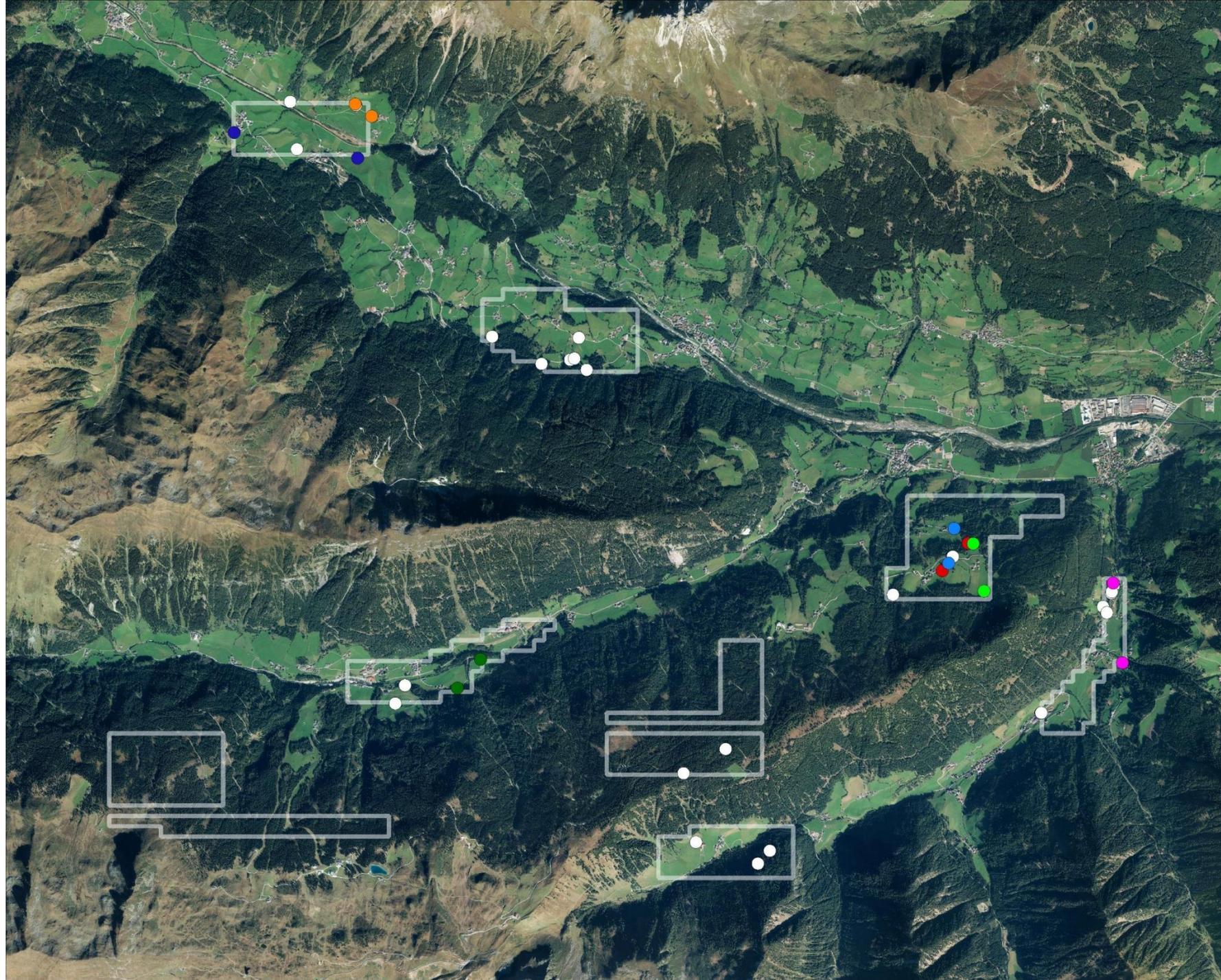
## GENOTIPIZZAZIONE

- 20 loci microsatellite
- sessaggio



56 campioni totali dei quali  
39 campioni tipizzati  
31 individui  
(7 ricampionamenti)

(11 Femmine, 17 Maschi e  
3 indeterminati)

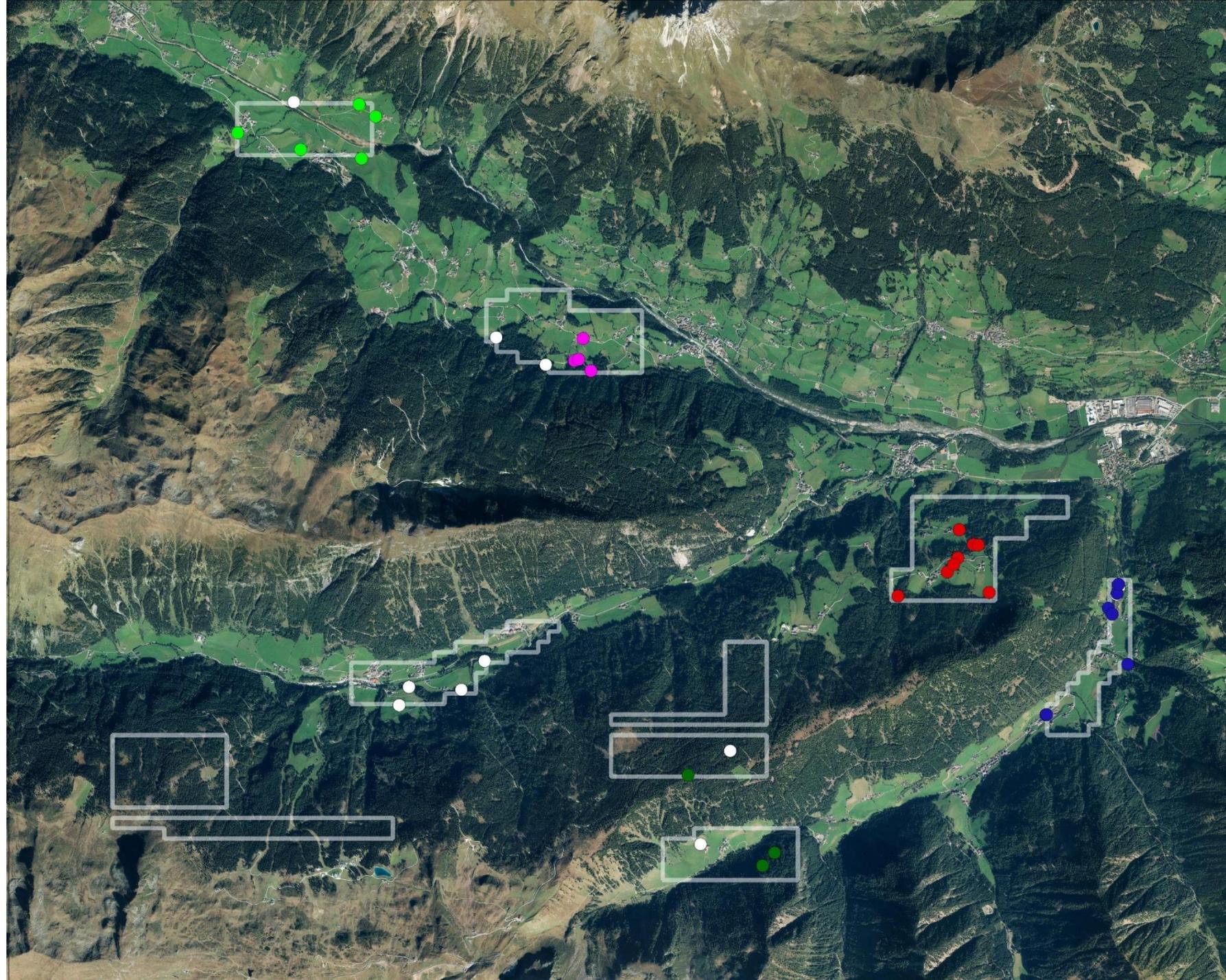


## ANALISI DI PARENTELA

5 gruppi familiari

(4 componenti per gruppo)

(distribuzione spaziale legata alla  
presenza nel dataset di giovani di 2-3  
mesi)

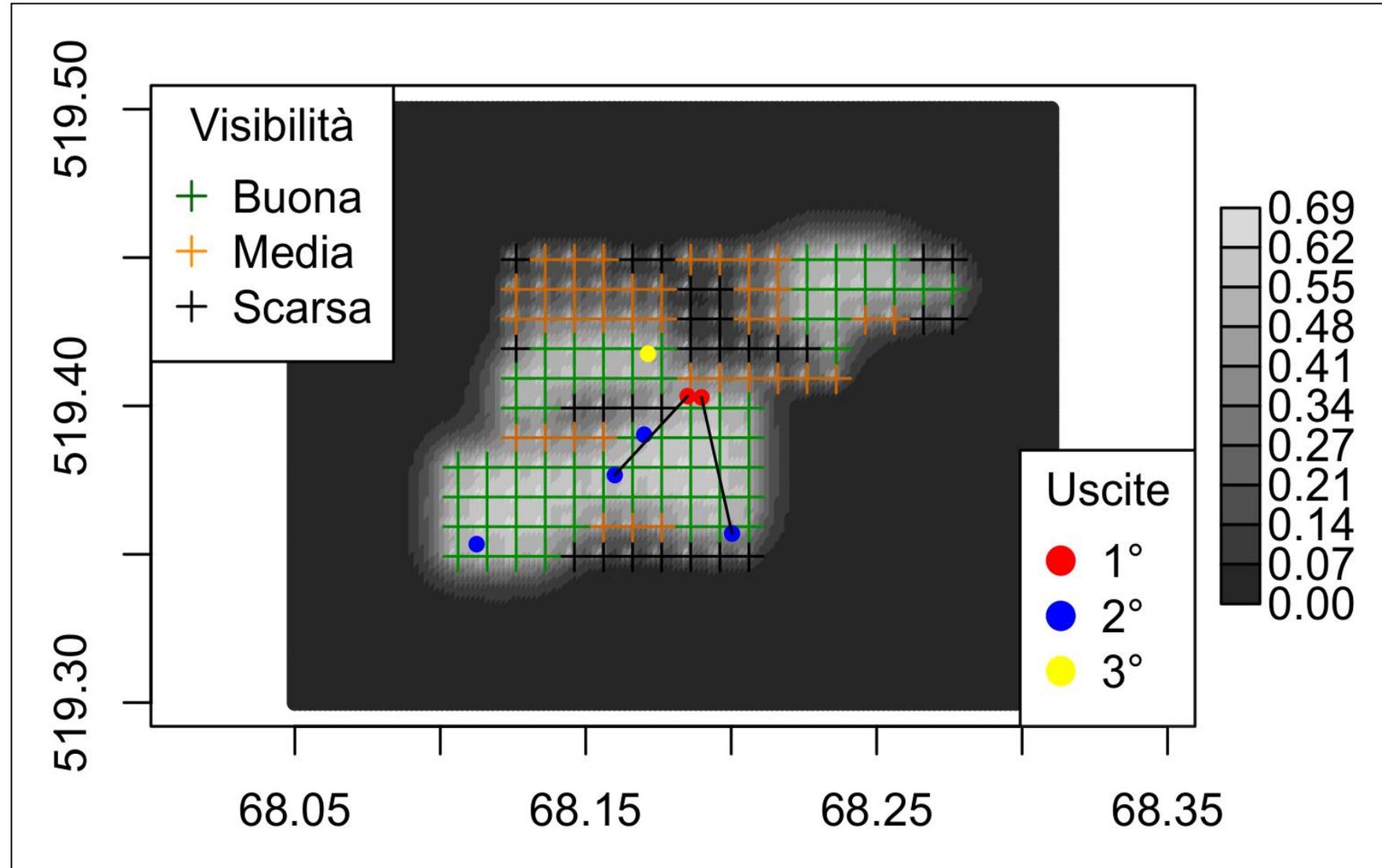


## ANALISI SPAZIALE

Calcolo (Maximum likelihood estimator (MLE) per  $N$  con (catene di Markov – Monte Carlo) MCMC (WinBUGS), Royle *et al.* (2001)

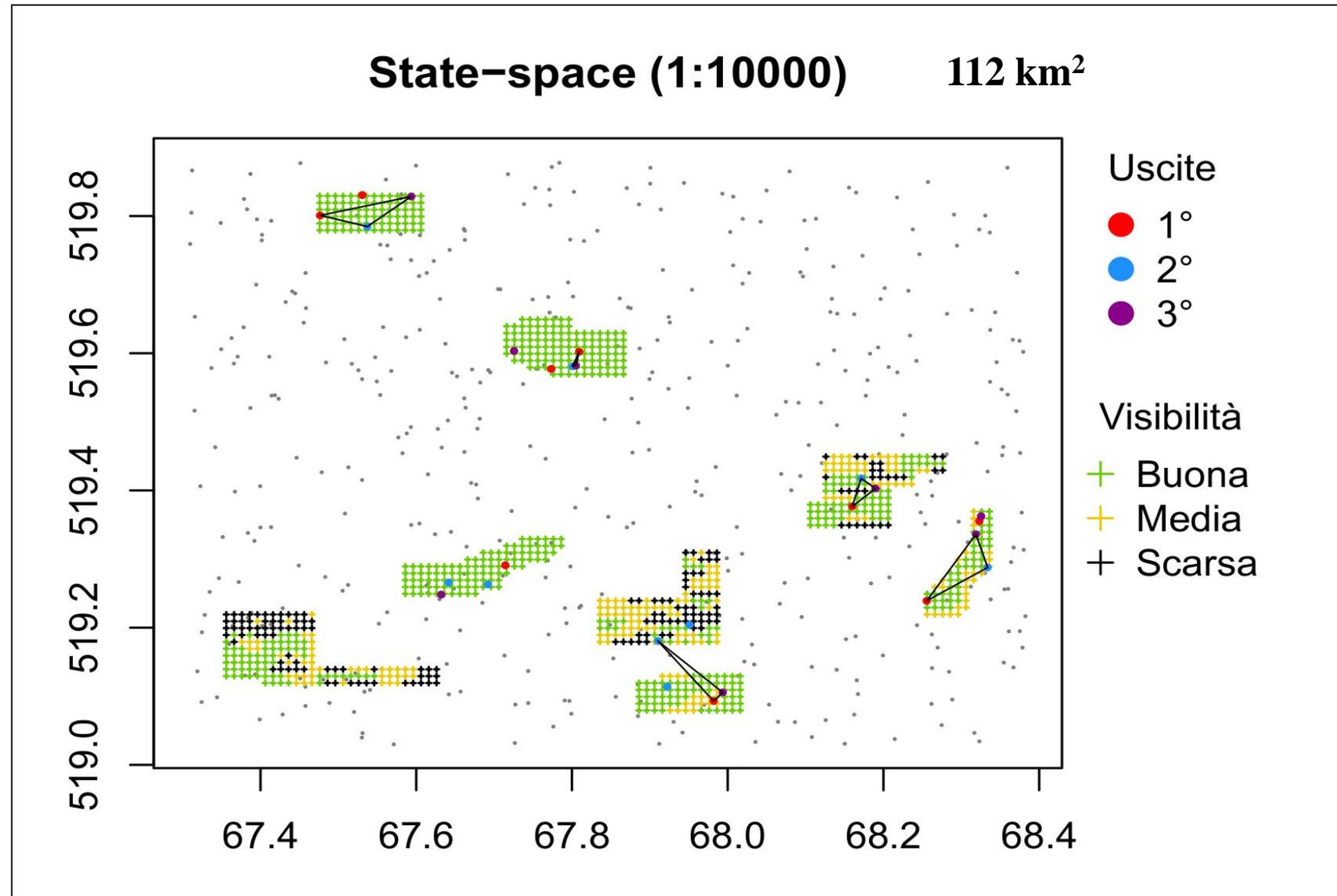
### ASSUNTI

- Gli **individui** sono uniformemente distribuiti sull'area
- Ogni **individuo** si muove normalmente attorno al proprio centro di attività
- La probabilità di incontro dipende dalla distanza dell'**individuo dal** transetto e dalla visibilità al suolo



## ANALISI SPAZIALE

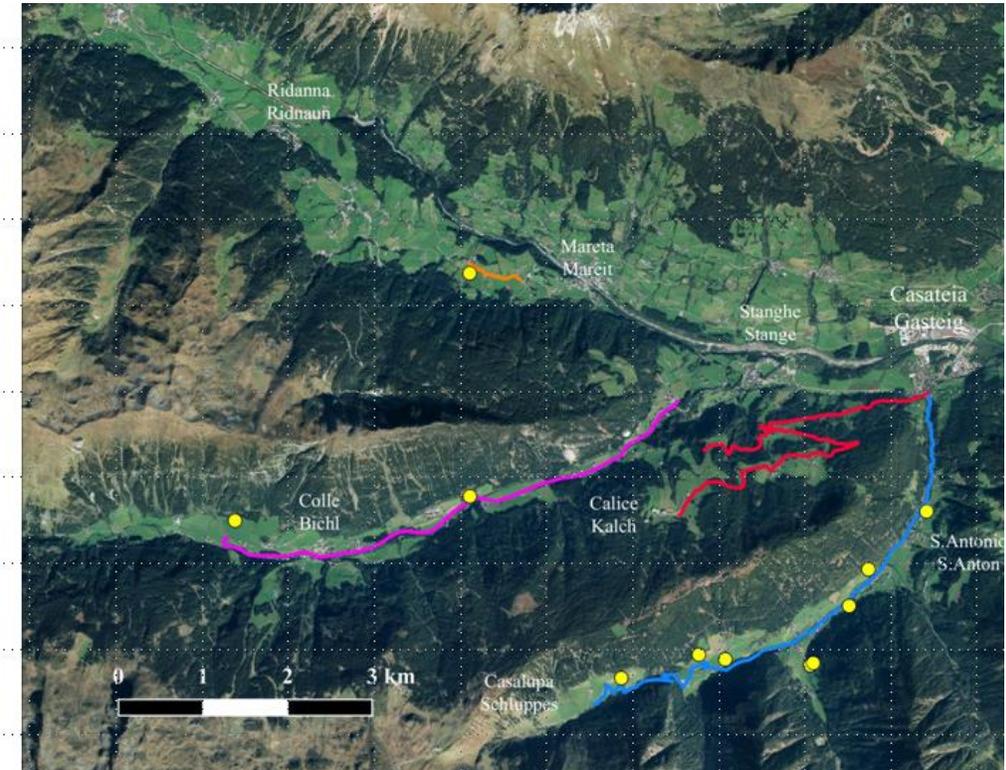
- **I gruppi familiari** sono uniformemente distribuiti sull'area
- Ogni individuo si muove normalmente attorno al centro («**tana**»)
- La probabilità di incontro dipende dalla distanza della «**tana**» dal transetto e dalla visibilità al suolo



# Risultati

- 0.92 gruppi familiari/km<sup>2</sup>
- Densità di 4.6 individui/km<sup>2</sup>

| CENSIMENTO AL FARO<br>(RACINES)<br>12/04/2018                                       |                   |       |
|---|-------------------|-------|
|   | Lunghezza<br>(Km) | IKA   |
|  | 0,879             | 1,14  |
|  | 6,220             | 0,32  |
|  | 7,191             | 0     |
|  | 7,132             | 1,12  |
| TOT   | 21,442            | 0,510 |



**Questi dati sono coerenti con una popolazione volpina non solo autosufficiente a livello demografico, ma anche piuttosto numerosa (Provincia di Belluno – censimento alle tane 2003 2.6 – 3.4 individui/km<sup>2</sup>)**

**Inoltre, sia il tasso di eterozigosi sia il numero di alleli/locus riscontrati indicano un'alta diversità genetica, che testimonia l'interconnessione con le popolazioni adiacenti mediante i fenomeni dispersivi tipici della specie.**

# Analisi parassitologiche

| <b>Feci da transetti in valli Ridanna-Racines-Valgiovo 2018</b> |    |
|---|----|
| Campioni totali   | 56 |
| Positivi <i>Taeniidae</i>                                       | 6  |
| Positivi <i>Echinococcus multilocularis</i>                     | 2  |
| Positivi <i>Taenia crassiceps</i>                               | 2  |
| Analisi ancora in corso   | 2  |





## CAMPIONAMENTO 2019

L'approfondimento delle analisi spaziali e il confronto con i risultati dei prossimi campionamenti, oltre a chiarire se e come l'indice di abbondanza relativa utilizzato per la volpe rifletta la densità della popolazione in oggetto, contribuiranno ad aumentare le conoscenze su quanto struttura ed entità numerica della popolazione volpina influenzino la permanenza di *E. multilocularis* al margine meridionale dell'areale di presenza in Europa

Distribuire il periodo di campionamento (prelievo alle volpi è in estate in Provincia di Bolzano) – Intensità di campionamento

Ricerche più specifiche e mirate su ospiti intermedi e variabili climatico-ambientali (umidità e temperatura)

Fattori che permettono la permanenza del parassita e attuare così una sorveglianza in altre aree più mirata basate su analisi del rischio

GRAZIE  
PER  
L'ATTENZIONE