

Malattie in *Lepus corsicanus* e programmi di monitoraggio e gestione sanitaria

Antonio Lavazza¹ e Vittorio Guberti²

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Centro di Referenza Nazionale per le Malattie Virali dei Lagomorfi, Via Bianchi 7/9, 25124 Brescia, Italia, email: alavazza@bs.izs.it

² Istituto Nazionale Fauna Selvatica, Via Cà Fornacetta 9, 40064 Ozzano Emilia, Italia, email: vittorio.guberti@infs.it

Abstract

Conservation biology is a discipline that needs every available tool to understand the causes and prevent species extinction. Diseases have been shown to represent a threat for many rare species when living in small and fragmented populations.

This is the case of *Lepus corsicanus*, which is the species originally present in Central-Southern Italy. The repeated introductions of *Lepus europaeus* in such areas for hunting management have provoked a severe decrease of autochthonous population of *L. corsicanus* and the infectious typical hares' diseases such as EBHS, pseudotuberculosis, tularaemia, pasteurellosis etc. can be included among the potential causes of such phenomenon.

Therefore, monitoring programs and diagnostic investigations can be addressed towards more oriented conservation management and thus to reduce the risk of extinction.

Introduzione

Dalla metà degli anni '80, quando è apparso evidente in tutta Europa una riduzione numerica delle popolazioni di lepri, si sono intensificati gli studi per comprenderne le cause (Corradini 1985, Poli *et al.* 1987), con un approccio ad ampio spettro che teneva in conto le più svariate cause infettive e non quali: antropizzazione, inquinamento ambientale, utilizzo di fitofarmaci e fertilizzanti, contrazione, erosione e riduzione della qualità degli habitat, aumento dei predatori conseguente ad alterazione dell'ecosistema, inadeguata gestione faunistica, meccanizzazione spinta in agricoltura, politiche agricole, ecc.

Ancor di più sono stati attuati piani di monitoraggio sanitari e di verifica di presenza di patogeni quando si è scoperto che una delle noxae più rilevanti alla base di tali perdite era una malattia infettiva ad eziologia virale, la Sindrome della Lepre Bruna Europea (EBHS acronimo del termine inglese European Brown Hare Syndrome) (Gavier *et al.* 1989, Poli *et al.* 1991). Segnalata all'inizio degli anni '80 in Svezia (Gustaffson *et al.* 1989), pare fosse presente in Germania e Centro Europa già alla metà del decennio scorso (Chasey e Duff 1990, Eskens e Volmer 1989).

All'iniziale comparsa dell'EBHS in Italia, avvenuta verso la fine degli anni '80 (Lavazza e Vecchi 1989), con tutta probabilità a seguito dell'importazione di soggetti dall'estero è seguita una rapida endemizzazione, tanto che oggi costituisce la principale causa di mortalità sia tra lepri allo stato libero sia di allevamento (morbilità 100%, mortalità 50%) (Lavazza e Capucci 1996).

A complicare il quadro nosologico di *L. europaeus* vi è il fatto che è una specie oggetto di intenso prelievo venatorio. Come tale, a fronte di pur consistenti ripopolamenti di lepri si ha annualmente una riduzione della densità nelle aree di caccia che rasenta l'estinzione e, comunque, tale da non consentire una ripresa naturale della popolazione.

Tutto ciò ha pertanto comportato l'attuazione delle più svariate e spesso irrazionali pratiche gestionali (es. introduzione di soggetti di cattura provenienti perlopiù da Paesi dell'Est Europa) con conseguenti gravi danni alle popolazioni autoctone locali tra cui anche quelle di *L. corsicanus*.

Le introduzioni di lepri europee, dallo stato sanitario incerto e/o documentato in maniera fittizia e sommaria, si sono ripetute per svariati anni, senza curarsi né della scarsa percentuale di sopravvivenza e di ripresa estremamente basse di questi soggetti dallo stato generale spesso fortemente compromesso dallo stress e dalle

condizioni di viaggio (Guberti 1998), né della loro scarsa adattabilità al territorio dell'Italia centro meridionale, né tantomeno dei rischi sanitari di introduzione di “nuovi” agenti patogeni. Infatti, non sono da ritenersi estranee a queste pratiche gestionali la comparsa anche in Italia, seppure in forma sporadica di altre malattie tipiche della lepre, notoriamente presenti nelle aree centro europee, alcune causa d'importanti zoonosi quali ad esempio la brucellosi (Quaranta *et al.* 1995) e la tularemia (Ercolini *et al.* 1991, Magnino *et al.* 1990, Tasselli *et al.* 1984).

Gestione sanitaria e gestione “integrata” della lepre

La progressiva consapevolezza di queste problematiche ed i conseguenti tentativi di attuare criteri gestionali più razionali e incentrati su un maggior rispetto delle dinamiche naturali di evoluzione delle popolazioni, ha indotto a considerare le tematiche sanitarie come parte integrante del sistema gestionale faunistico-venatorio e ambientale.

Le esperienze condotte in diverse Province italiane (Modena, Siena, Alessandria Piacenza, Mantova, etc.), supportate anche da prove sperimentali condotte presso l'INFS di Ozzano Emilia (BO) e l'IZSLER di Brescia (Cammi *et al.* 2003, Lavazza *et al.* 1992, Lavazza *et al.* 1998, Zanni *et al.* 1995), hanno dimostrato che il ripopolamento basato sulla cattura periodica (a fine stagione di caccia) in aree di ripopolamento e successivo lancio in aree di caccia attigue, rappresenta la procedura gestionale che fornisce i migliori risultati, anche sotto il profilo sanitario. Ciò a patto che le aree di ripopolamento individuate siano in numero ottimale, equamente distribuite sul territorio, e “conformate” in maniera tale da consentire il raggiungimento di elevate densità di lepri ($\Rightarrow 15-18$ capi/km²) (Lavazza *et al.* 1998).

La situazione sopra ricordata appare l'unica che consente l'esecuzione di piani di monitoraggio sanitari, finalizzati a minimizzare il rischio di comparsa di malattie nella popolazione a vita libera. Inoltre, permette alla popolazione di seguire una dinamica evolutiva più “naturale”, in cui l'intervento umano è confinato maggiormente a verificarne l'andamento (censimenti, indici d'incremento annuo, mortalità nelle varie fasi etc.) piuttosto che a modificare in maniera radicale e repentina la consistenza numerica e qualitativa della popolazione, attraverso manipolazioni ed introduzioni di animali da ambienti e habitat talora differenti in modo sostanziale.

Ecco allora in pochi anni che si è passati da un sistema di verifica sanitaria basato essenzialmente su principi di sorveglianza passivi consistenti nell'analisi delle cause di morte di soggetti deceduti trovati morti in territori di caccia o aree di ripopolamento, a sistemi di monitoraggio vero e proprio con sorveglianza mista, caratterizzata anche da una sorveglianza attiva, cioè programmata, su soggetti a vita libera, di allevamento e di cattura da zone di riserva (ZRC, zone rosse, AFV, recinti di ambientamento).

Situazione sanitaria di *L. corsicanus*

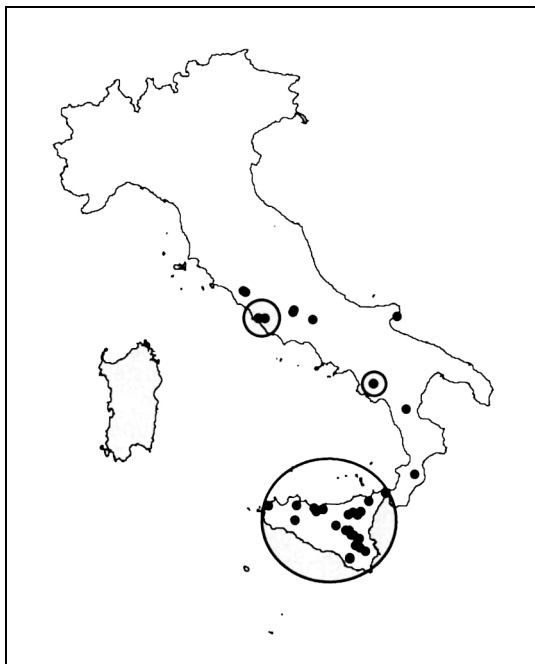
In parallelo con la disponibilità di esemplari di *L. corsicanus* e di *L. europaeus* provenienti dalle regioni centro-meridionali e dalla Sicilia per le analisi di tipo sistematico, è stata quindi avviata e attuata una preliminare attività di monitoraggio sanitario, sia su esemplari catturati, sia su soggetti abbattuti o ritrovati morti. Ciò al fine di verificare in modo particolare la recettività di *L. corsicanus* al virus della Sindrome della Lepre Bruna Europea (EBHS), considerato forse il principale agente nosologico in grado di incidere in modo negativo sulla dinamica di popolazione della lepre.

Guberti *et al.* (2000) hanno potuto esaminare sieri di *L. corsicanus* provenienti dalla Sicilia (16), dalla Riserva Naturale di Castel Porziano (5) e dal Parco Nazionale del Cilento e Vallo di Diano (3), oltre a 4 fegati di animali morti spontaneamente (Figura 1) Nel contempo sono stati esaminati 11 sieri di lepri europee simpatiche. Il 19% dei sieri di *Lepus corsicanus*, rispetto al 45,5% di *L. europaeus*, è risultato positivo per EBHS, dimostrando quindi la recettività della specie nei confronti di questa importante infezione e un fegato è risultato virologicamente positivo, evidenziando il carattere letale di questa patologia anche per *L. corsicanus*. I medesimi Autori hanno individuato in *L. europaeus* il serbatoio epidemiologico dell'infezione ed è quindi lecito affermare che questa specie costituisce una “minaccia sanitaria” nei confronti di *L. corsicanus*.

Un programma di sorveglianza sanitaria delle popolazioni di lepre, condotto dal Parco Nazionale del Cilento e Vallo di Diano in collaborazione con il Dipartimento di Zoologia dell'Università Federico II di Napoli (Milone e de Filippo 2000) non ha fornito risultati comparabili per quanto concerne la presenza di EBHS. Sono stati esaminati con metodi sierologici per la determinazione di anticorpi alcuni campioni di sangue di *L. corsicanus* e *L. europaeus*, per i quali era stato previsto un prelievo di sangue per le analisi genetiche e, con metodi virologici per la

ricerca del virus dell'EBHS gli organi di 2 *L. corsicanus* e 4 *L. europaeus*. Nei sieri di *L. corsicanus* è risultata l'assenza sia di anticorpi specifici all'EBHS che di positività virali. Viceversa in tutti gli individui di *L. europaeus* indagati tra quelli impiegati dall'ATC di Salerno per le immissioni a scopi venatori, è risultata sempre la positività immunosierologica in assenza però di virus.

Figura 1- Distribuzione delle popolazioni di *L. corsicanus* (●) e aree di campionamento (○)



Programmi di intervento sanitario

La disponibilità di campioni e materiali ottenibile attraverso l'attuazione di programmi sistematici di controllo e incremento di questa specie autoctona potrebbero consentire l'attuazione di specifici piani di monitoraggio sanitario, rivolti a verificare dapprima la recettività di *L. corsicanus* alle altre infezioni che notoriamente costituiscono dei fattori limitanti per la dinamica di popolazione *L. europaeus* (pasteurellosi, yersinosi, stafilococchi, fibromatosi, parassitosi protozoarie ed elmintiche) e quindi accertare la presenza, prevalenza ed incidenza nelle diverse sub-popolazioni, oltre che della EBHS anche di altre importanti malattie, alcune delle quali a carattere zoonosico, che possono infettare la lepre (psedotubercolosi, tularemia, brucellosi, toxoplasmosi, etc.).

E' quindi essenziale, in ambito di programmazione di un piano d'azione per la conservazione e gestione di una specie endemica definibile come "minacciata" qual è *L. corsicanus*, prevedere una specifica azione di monitoraggio sanitario sia delle popolazioni di *L. corsicanus* in natura (A) che degli esemplari destinati a progetti di reintroduzione in natura (B).

Nel primo caso (A) andrebbero sia raccolte le carcasse di animali deceduti spontaneamente per la effettuazione di specifici esami necroscopici e laboratoristici (batteriologici con particolare attenzione a tularemia, pseudotubercolosi, pasteurellosi e brucellosi; virologici per EBHS) sia campionate le lepri eventualmente abbattute durante l'attività venatoria prelevando i visceri interni e una piccola quantità di sangue per indagini sierologiche.

Nel secondo caso (B), previa valutazione dello stato sanitario della biocenosi d'origine e stima della densità e del successo riproduttivo della popolazione, andrebbero prelevati un numero significativo di campioni di sangue, predeterminato in funzione della prevalenza attesa delle infezioni che si intendono controllare e della consistenza della specie, per l'esecuzione di esami sierologico per la ricerca di anticorpi specifici contro il virus dell'EBHS, brucellosi, leptospirosi, borreliosi, tularemia, toxoplasmosi.

Nel contempo andrebbero campionate ed eseguite un analogo corredo di indagini anche sulle popolazioni di *L. europeus* simpatriche, al fine di ottenere una stima corretta della prevalenza delle malattie citate in tale specie e poter effettuare dei rilievi comparativi con *L. corsicanus*.

Le metodiche applicabili

Dopo l'esecuzione dell'esame necroscopico, unitamente all'utilizzo di metodiche standard di indagine batteriologica e parassitologica, per la diagnosi virologica su organi (fegato e milza) di carcasse di lepri, è possibile usare il metodo ELISA tipo "sandwich" sviluppato e utilizzato presso PIZSLER. Una tecnica molto sensibile e specifica che è basata sull'utilizzo di un anticorpo monoclonale specifico quale "tracciante" della avvenuta reazione (Capucci *et al.* 1991a, Capucci *et al.* 1991b).

Per la verifica di circolazione virale in popolazioni di lepri selvatiche possono essere utilizzati i test sierologici. E' stato dimostrato che il virus dell'EBHS determina una risposta immunitaria prevalentemente di tipo umorale e che tale risposta, apprezzabile in tempi molto brevi (4-5 gg dopo l'infezione) e persistente nel tempo, è totalmente protettiva.

Il test ELISA per competizione sviluppato presso PIZSLER consente l'identificazione di anticorpi specifici anti-EBHSV nel siero di lepri (Capucci *et al.* 1991a, Scicluna *et al.* 1994). Questo e altri test disponibili (es. l'ELISA indiretta che è un test dotato di maggior sensibilità e minor specificità del cELISA) dovranno quindi essere valutati con i diversi campioni disponibili (siero di sangue, coagulo cardiaco, eluito da carta bibula) per verificare i fattori di diluizione e correlare i risultati con i titoli anticorpi anticorpali.

Gli emosieri possono essere inoltre sottoposti a procedure diagnostiche per svelare la presenza di anticorpi (soglia di positività indicata in parentesi) nei confronti degli agenti causali delle seguenti malattie: *Leptospirosi* – microagglutinazione (MAT) con ricerca di anticorpi verso 8 sierovarianti di *Leptospira interrogans* (*L. australis/bratislava*, *L. ballum ballum*, *L. canicola canicola*, *L. grippityphosa grippityphosa*, *L. icterohaemorrhagiae copenhageni*, *L. pomona pomona*, *L. sejroe hardjo*, *L. tarassovi tarassovi*) ($\geq 1/100$); *Brucellosi* – Fissazione del Complemento (FdC) con antigene *Brucella abortus-melitensis* (≥ 20 UI); *Tularemia* – sieroaagglutinazione lenta in micrometodo (MAT) ($\geq 1:40$); *Borreliosi di Lyme* – immunofluorescenza indiretta (IFI), con antigene *Borrelia burgdorferi*, ceppo italiano Bits ($\geq 1:80$); su tessuti (*punch* auricolari) dei soggetti sieropositivi, PCR per *B. burgdorferi* sl; *Toxoplasmosi* – sieroaagglutinazione al lattice (LAT), kit commerciale Toxotest-MT Eiken® ($\geq 1:32$).

Conclusioni

La ripetizione con cadenza annuale di un simile piano potrebbe fornire una previsione della comparsa di focolai di EBHS e porterebbe all'acquisizione di dati fondamentali non solo per una corretta gestione sanitaria di una specie selvatica ma anche in termini di salute pubblica. Il venire a conoscenza delle patologie dominanti in ciascun'area e dello stato sierologico degli animali permette, infatti:

- una più corretta movimentazione degli animali, laddove questa venga attuata, potendo cioè rispettare una uguaglianza di condizioni dell'ambiente ricevente rispetto al donatore;
- l'eventuale adozione di misure restrittive per limitare la diffusione di malattie infettive e diffusive quali blocco delle catture, messa a riposo di certe aree per uno o più anni;
- l'adozione di misure di profilassi specifica, quali interventi di vaccinazione con vaccini stabulogeni o la sieroterapia in caso di comparsa di focolai di EBHS (Lavazza *et al.* 1996).

E' inoltre auspicabile che l'applicazione sistematica di simili piani di monitoraggio, fondati anche e soprattutto sulla collaborazione prestata da tutti gli operatori del settore, possa aiutare a creare una maggiore sensibilità tra gli stessi verso i problemi sanitari, la risoluzione dei quali porterebbe a benefici tangibili soprattutto in termini numerici di sviluppo delle popolazioni di selvatici.

Vi è infatti la convinzione che solo attraverso un intervento coordinato ed organizzato rispettoso delle diverse competenze e specializzazioni, sarà possibile acquisire maggiori informazioni sullo status sanitario di *L. corsicanus*, finalizzato a minimizzare i rischi sanitari ed a garantire la conservazione della specie.

Bibliografia

- Cammi G., Capucci L., Bernini F. e Lavazza A. 2003. Indagine sulla diffusione dell'EBHS nella popolazione di lepri presente nel territorio della provincia di Piacenza nel 1997. In Proceedings of the 2nd Conference of the Società Italiana di Ecopatologia della Fauna (SIEF). Journal of Mountain Ecology 7 (suppl): 165-174.
- Capucci L., Scicluna M. T. e Lavazza A. 1991a. The Diagnosis of the Viral Haemorrhagic Disease Virus and European Brown Hare Syndrome. Revue Scientifique et Technique OIE 10: 347-370.
- Capucci L., Scicluna, M. T. e Lavazza, A. 1991b. Protocollo delle reazioni ELISA per la diagnosi virologica e sierologica della Malattia Emorragica Virale del coniglio (RVHD) e virologica della European Brown Hare Syndrome (EBHS). Selezione Veterinaria 32: 1381-1397.
- Chasey D. e Duff, P. 1990. European brown hare syndrome and associated virus particles in the UK. Veterinary Record 126: 623-624.
- Corradini L. 1985. La Sezione Zooprofilattica di Ferrara e i controlli sanitari sulle lepri. Caccia, Pesca e Territorio, n° 11.
- Ercolini C., Fisichella S., Pasini G. e Mignani E. 1991. Rilievi siero-epidemiologici sulla diffusione dell'infezione tularemica in provincia di La Spezia. Nuovo Prog. Vet. 10: 358-361.
- Eskens U. e Volmer K. 1989. Untersuchungen zur Aetiologie der Leberdystrophie des Feldhasen (*Lepus europaeus* Pallas). Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 96: 464-466.
- Gavier D., Beer J. V., Erne K., Eskens U., Frylestam B., Ippen R., Louzies C., Lavazza A., Morner T., Okerman L., Poli A., Schneider E. e Steineck T. 1988. Report of the Meeting on "Disease of hares and European Brown Hare Syndrome". October 27-30, National Veterinary Institute, Uppsala, Sweden. (non pubblicato).
- Guberti V. 1998. Una puntualizzazione sull'importazione di fauna selvatica. Atti del Seminario Nazionale "Gestione del territorio ai fini ambientali, faunistici e venatori", Villanova (BO) 11-12 settembre 1998, INFS, pp. 187-192
- Guberti V., De Marco M. A., Riga F., Lavazza A., Trocchi V. e Capucci L. 2000. Virology and species conservation: the case of EBHSV and the Italian Hare (*Lepus corsicanus*). Proceedings of the 5° Congress of the European Society for Veterinary Virology (ESVV) Brescia, 27-30 agosto 2000, pp. 198-199.
- Gustaffson K., Svensson T. e Uggla A. 1989. Studies on a idiopathic syndrome in the brown hare (*Lepus europaeus* P.) and mountain hare (*Lepus timidus* L.) in Sweden, with special reference to hepatic lesions. Journal Veterinary Medicine A. 36: 631-637.
- Lavazza A. e Capucci L. 1996. Importanza della EBHS nella gestione della lepre. Atti del Convegno Nazionale di Ecopatologia della Fauna Selvatica. organizzato da INFS e SIEF. Bologna, 15-17 dicembre 1994. Ric. Biol. Selvag. Supl. 24: 367-389.
- Lavazza A. e Vecchi G. 1989. Osservazioni su alcuni episodi di mortalità nella lepre: evidenziazione al Microscopio Elettronico di una particella virale. Nota preliminare. Selezione Veterinaria 30: 461-468.
- Lavazza A., Capucci L., Mortarino P., Zanni M. L., Benassi M. C. e Grilli G. 1996. Profilassi vaccinale nei confronti della Sindrome della lepre Bruna europea (EBHS). Atti del Convegno Nazionale di Ecopatologia della Fauna Selvatica. organizzato da INFS e SIEF. Bologna, 15-17 dicembre 1994. Ric. Biol. Selvag. Supl. 24: 521-528.
- Lavazza A., Guberti V., Ferri M., Zanni M. L., Poglayen G. e Capucci L. 1998. Quantitative epidemiological study of EBHS in Modena province (North Italy). Proceedings 4th International Congress of Veterinary Virology, ESVV, Edimburgh (Scotland), 24-27th August 1997, p. 26.
- Lavazza A., Scicluna M. T., Corradini L., Poli A., Barigazzi G., Cammi G. e Capucci L. 1992. Diagnostic procedures for European Brown Hare Syndrome (EBHS): application in epidemiological surveys in two italian regions. In: Proceedings 14th Conference of the OIE Regional Commission for Europe, 2-5 October 1990, at Sofia, Bulgaria., Paris, OIE, pp. 133-152.
- Magnino S., Fabbì M., Luini M., Cervio G., Guallini L. e Redaeli G.L. 1990. Indagine epidemiologica sulla diffusione della tularemia nel comprensorio dell'Oltrepò pavese. Arch. Vet. Ital. 41: 1-22.

- Milone M. e de Filippo G. 2000. Progetto per la conservazione della lepre appenninica *Lepus corsicanus*, Relazione finale e strategie per la conservazione. PNCVD, documenti tecnici.
- Poli A., Mancianti F., Marconcini A., Cerri D. e Agrimi P. 1987. Diseases of wild living hares (*Lepus europeus*, Pallas) in Tuscany. Sonderdruck aus Verhandlungsbericht des 29. Internationalen Symposium über die Erkrankungen der Zootiere, Cardiff, 1987, pp. 341-347.
- Poli A., Nigro M., Gallazzi D., Sironi G., Lavazza A. e Gelmetti. D. 1991. Acute hepatitis in European brown hare (*Lepus europaeus*, Pallas). J. Wildlife Diseases 27: 621-629.
- Quaranta V., Farina R., Poli A., Cerri D. e Palazzo L. 1995. Sulla presenza di *Brucella suis* biovar 2 nella lepre in Italia. Sel. Vet. 36: 953-958.
- Sciicluna M. T., Capucci L. e Lavazza A. 1994. European Brown Hare Syndrome (EBHS) in Northern Italy: results of virologic and serologic tests. Revue Scientifique et Technique OIE 13: 893-904.
- Tasselli E., Micozzi G., Palarchi M., Bressan S., Leoncini F., Biffi Gentili S., Dipietro M. e Paoli M. 1984. Evoluzione della tularemia in Toscana. Nuovo Prog. Vet. 22: 1075-1081.
- Zanni M.L., Poglayen G., Marzadori F., Benassi M.C., Capucci L., Carpenè E., Fabbi M., Magnino S., Tagliabue S., Roda R., Tasselli A., Serra R., Venturi L., Bartoloucci M., Galuppi R. e Lavazza A. 1995. Monitoraggio sanitario nella lepre (*Lepus europaeus* Pallas) in provincia di Ravenna. Sel. Vet. 36: 1-25.