

ESPERIENZE ITALIANE DI IMMUNIZZAZIONE ORALE
DELLE VOLPI *CONTRO* LA RABBIA:
VALIDITÀ DEL METODO E RISULTATI OTTENUTI

ORAL FOX IMMUNIZATION AGAINST RABIES IN **ITALY**:
EFFICIENCY OF THE METHOD AND RESULTS

ANGELO CIVARDI (*)

RIASSUNTO

Sono esposti i risultati degli esperimenti di immunizzazione orale della Volpe (*Vulpes vulpes*) contro la rabbia silvestre in Italia, illustrando la preparazione e l'esecuzione dei piani di vaccinazione, il monitoraggio delle volpi ed i relativi controlli di laboratorio. Dal 1984 al 1987 sono state compiute 6 campagne vaccinali che hanno interessato le province di Brescia, Trento e Bolzano. I risultati ottenuti confermano la validità della vaccinazione orale della Volpe come strumento di lotta e di profilassi contro la rabbia silvestre.

Parole chiave: Rabbia silvestre, Vaccinazione delle volpi, *Vulpes vulpes*, Italia.

ABSTRACT

From 1984 to 1987 six campaigns of oral fox vaccination against Rabies by living modified antirabies vaccine (SAD-B 19) were carried out in the province of Brescia (Central Alps) and in the provinces of Bolzano and Trento (Eastern Alps). The oral fox vaccination has been shown to be a rapid and safe method to extinguish enzootic foci of sylvatic Rabies. Laboratory tests have been performed in order to control the presence of tetracycline, the serum conversion and the presence of wild or attenuated viruses in the nervous tissue of foxes and other wild animals. Results confirm the effectiveness of the method.

Key words: Wild rabies, Oral fox vaccination, *Vulpes vulpes*, Italy.

INTRODUZIONE

L'ondata di rabbia silvestre che ha colpito l'Europa, dopo la seconda guerra mondiale, è entrata in Italia nel febbraio del 1977 superando il passo di Krimmel in Val Aurina, in Alto Adige. Questo primo focolaio si è rapidamente esteso fino alla provincia di Belluno per poi estinguersi nel 1979. Nell'autunno 1978, un secondo focolaio proveniente dall'Austria ai confini con la Svizzera, colpì nel 1980 la Val Venosta e, nel 1983, si estese anche alla provincia di Trento.

Nel 1981 un quarto focolaio, proveniente dalla Svizzera, interessò rapidamente la provincia di Sondrio, e, negli anni successivi, si diffuse alle province di Como, Bergamo e Brescia dove perdurò fino al 1985.

(*) Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia, Via A. Bianchi 7, 25100 Brescia

Nel 1984, va inoltre segnalata la presenza di un piccolo focolaio in Val d'Aosta, in tre piccoli comuni, che però si estinse nello stesso anno.

Nel luglio 1986, dopo circa 9 anni dal primo focolaio, la rabbia silvestre scomparve dall'Italia, grazie anche alle diverse campagne di vaccinazione orale delle popolazioni volpine; nell'agosto del 1988, altri focolai provenienti dalla Jugoslavia, ricomparvero però nelle province di Trieste e Gorizia, dove l'epizoozia è tuttora presente.

METODI

Il rapido diffondersi della rabbia silvestre nell'arco alpino, la valutazione degli elevati costi per le necessarie campagne vaccinali degli animali particolarmente sensibili all'infezione e la vaccinazione delle persone soggette a rischio, indussero a focalizzare l'attenzione sugli esperimenti di vaccinazione orale delle volpi già iniziati in Svizzera sin dal 1978 ed in Germania (Steck et al., 1981) sotto l'egida dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (O.M.S.).

Sulla base di queste esperienze straniere, che dimostrano l'efficacia delle azioni vaccinali eseguite, si prese in seria considerazione l'opportunità di tentare anche in Italia un esperimento di immunizzazione orale della Volpe.

Particolare attenzione venne posta all'innocuità e all'efficacia dei vaccini vivi da usare, gli stipidi SAD/BHK-21 di Berna e il SAD-B 19 di Tubingen.

I rischi epidemiologici che possono derivare dall'uso di un vaccino costituito da un virus vivo seppur attenuato, distribuito in campo dipendono in teoria dalla patogenicità residua, dal possibile recupero di virulenza dei ceppi vaccinali, dalla eventuale selezione antigenica di virus selvaggio a contatto di animali parzialmente immuni.

Per questi rischi, di non poca rilevanza, già dal 1972 l'O.M.S. considerava ogni campagna di immunizzazione orale degli animali selvatici come una sperimentazione da condurre sotto stretta sorveglianza di autorità nazionali e internazionali.

Per questo, in Italia venne costituito un Comitato Tecnico Scientifico, al quale venne affidata l'organizzazione esecutiva dell'esperimento.

Il Comitato era composto da rappresentanti del Ministero della Sanità, dell'Istituto Superiore di Sanità, degli istituti Zooprofilattici di Brescia e Padova, dai veterinari regionali o provinciali delle zone interessate dalla rabbia, nonché da ecologi, infettivisti, biologi e amministratori locali.

Il Consiglio Superiore di Sanità espresse parere favorevole all'esecuzione della prima sperimentazione (settembre 1984) sulla base delle relazioni tecniche, prodotte dal Comitato Scientifico, riguardanti:

- il buon esito delle campagne vaccinali in Svizzera e in Germania;
- i risultati favorevoli del controllo del ceppo **SAD-B 19** Tubingen effettuato dall'Istituto Superiore di Sanità;
- gli obiettivi dell'intervento vaccinale sperimentale proposti dalla provincia di Brescia e dalla Regione Lombardia;

- la prova "in bianco" effettuata con esche, costituite da teste di pollo prive di vaccino, per collaudare l'efficienza dell'intero apparato organizzativo lombardo (posa e controllo dell'assunzione delle esche, monitoraggio post-vaccinale delle volpi, lotta al rapdagismo, organizzazione del personale coinvolto, diponibilità di mezzi di trasporto ed attrezzature).

Gli obiettivi, che il Comitato scientifico si era posto erano i seguenti:

- a) creare una barriera immunologica che arrestasse la diffusione della rabbia;
- b) eliminare, con la vaccinazione, la rabbia anche da quelle zone in cui il solo sfoltimento delle volpi era stato insufficiente (Trentino-Alto Adige);
- c) controllare in campo l'efficacia del vaccino anche a carico di animali non-bersaglio;
- d) favorire una fattiva collaborazione tra Istituzioni scientifiche (nazionali ed estere), Associazioni venatorie, Amministrazioni locali e centrali, Associazioni protezionistiche, ecc.
- e) valutare, dal punto di vista socio-economico, vantaggi e svantaggi dell'intervento di immunizzazione.

Il Comitato stabilì la struttura-base dell'esperimento indicando:

- i territori di sperimentazione sulla base dei rilievi epidemiologici e delle caratteristiche orografiche;
- la strategia vaccinale da seguire;
- il periodo di intervento vaccinale, tenendo conto del ciclo biologico della Volpe e delle caratteristiche meteorologiche delle zone prescelte;
- le attribuzioni dei compiti e delle responsabilità ai vari Istituti, Associazioni ed Amministrazioni coinvolti;
- il bilancio ed il reperimento dei fondi per l'attuazione delle sperimentazioni.

In aggiunta il Comitato compilò un protocollo sperimentale, fissando dettagliatamente l'ordine cronologico delle operazioni, riguardanti:

- 1) l'intervento vaccinale;
- 2) l'azione informativa;
- 3) la valutazione dell'efficacia in campo del vaccino;
- 4) l'evoluzione epidemiologica della malattia;
- 5) l'interpretazione dei risultati;
- 6) la valutazione dei rischi epidemiologici mediante ricerche di laboratorio.

La prima campagna di vaccinazione venne eseguita in Val Camonica dal 27 al 30 novembre 1984 distribuendo, con l'intervento di 36 squadre, ciascuna composta da 3 operatori, 7.500 esche su una superficie di 700 km² comprendenti 45 comuni.

Sulla base di dati forniti dal Centro di Referenza dell'O.M.S. di Tübingen, il Comitato Tecnico Scientifico propose l'uso del vaccino SAD-B 19 di Tübingen per le sue caratteristiche di innocuità, stabilità in campo e potere immunogeno per la Volpe.

Il vaccino, importato, era confezionato in capsule di stagnola e conservato in congelatore. L'esca-vaccino veniva preparata la sera precedente la distribuzione inserendo nella cavità oro-faringea di ogni testa di pollo la capsula di vaccino e inoculando, quale sostanza marcante, 150 mg di tetraciclina nella cavità orbitale.

La preparazione delle esche-vaccino è stata fatta presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Brescia da personale tecnico precedentemente vaccinato e controllato per la presenza di anticorpi contro la rabbia.

La distribuzione delle stesse è stata preceduta da una capillare azione informativa, a carattere precauzionale, presso la popolazione residente e da una diffusa lotta al randagismo canino allo scopo di eliminare potenziali e indesiderati concorrenti nell'assunzione delle esche.

Alcuni membri del Comitato Tecnico Scientifico hanno controllato sul campo la corretta esecuzione della posa delle esche.

La valutazione della sperimentazione vaccinale ha compreso:

- controllo delle esche assunte dalla Volpe al 4°, 8° e 14° giorno dalla distribuzione;

- recupero di un numero prestabilito di esche dal 4°, 8° e 14° giorno per controllare la stabilità del virus-vaccino esposto alle condizioni ambientali;

- monitoraggio post-vaccinale delle volpi a partire dalla 4^a settimana e sino alla 24^a dalla posa delle esche.

Il monitoraggio prevedeva l'abbattimento di una Volpe ogni 10 km² circa e l'invio degli animali all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Brescia al fine di eseguire:

- a) un esame mediante immunofluorescenza (**IF**) per accertare la presenza di virus rabido, **sia** selvatico sia vaccinale;

- b) una prova biologica su topino e reisolamento su colture di tessuto;

- c) un controllo per la presenza di tetraciclina nelle ossa dei soggetti monitorati, al fine di poter stabilire l'indice di assunzione delle esche;

- d) un controllo dello stato immunitario raggiunto dai soggetti monitorati mediante la RFFIT (Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test).

Tutte le operazioni suddette, applicate nella prima campagna vaccinale, sono state eseguite anche nelle successive effettuate in provincia di Brescia, Trento e Bolzano. Infatti, dopo le prime due campagne vaccinali in Val Camonica nell'autunno 1984 e nella primavera 1985, l'esperimento, previa autorizzazione del Ministero della Sanità (maggio 1986), è stato esteso ad alcune zone delle province di Trento e Bolzano.

Con la terza campagna vaccinale di Brescia e la prima di Trento e Bolzano, è stata utilizzata una nuova serie di vaccino confezionato in esche-saponetta a base di farine di pesce e grassi animali, nelle quali veniva incorporata la capsula contenente il virus-vaccino.

Il nuovo tipo di confezione aveva almeno due grandi vantaggi:

- 1 - le esche-vaccino potevano essere preparate direttamente dall'Istituto produttore con vaccino appena preparato, stoccate in congelatore in grande quantità e per lungo tempo, consentendo di far fronte anche a notevoli richieste, senza ulteriori manipolazioni che avrebbero potuto compromettere l'efficacia del virus-vaccino;

- 2 - le esche-vaccino consentivano una distribuzione più pratica anche dal punto di vista igienico e sono inoltre risultate **più** appetibili rispetto a quelle preparate con teste di pollo, grazie soprattutto al loro intenso odore.

Tab. 1 — Campagne di vaccinazione contro la rabbia per via orale nella Volpe.

Campaigns of oral fox vaccination against Rabies. (1) Province; (2) Days; (3) Month; (4) Year; (5) Communes; (6) Baits; (7) Squads (everyone of 3 operators) for the distribution of the fox-baits; (8) % of ingested baits after 4 days, between 4th and 8th day, between 8th and 14th day; (9) Baits for rabies control after 4, 8, 14 days; 10) Monitored fares

PROVINCIA (1)	BS	BS	BS	TN	BZ	TN
Giorni (2)	27-30	28-31	26-30	16-19	20-23	23 Mar.
Mese (3)	Nov.	Mag.	Mag.	Giu.	Mag.	18 Apr.
Anno (4)	1984	1985	1986	1986	1986	1987
Comuni N. (5)	45	45	73	89	3	73
Km ²	700	700	1350	1800	78	704
Esche N. (6)	7500	7500	16000	18284	1108	9955
Squadre N. (7)	36	36	111	83	4	
% Assunzione esche (8)	61	85	67	50	83	50,7
dopo 4 giorni	26	32	22	18	25	17,9
tra il 4° e l' 8° giorno	16	36	25	15	28	16,8
tra l' 8° e il 14° giorno	19	17	20	17	30	16,0
Esche per controllo virus a 4-8-14 giorni(9)	10	10	16	15	3	11
Volpi catturate N. (10)	46	21	114	142	10	18

Tab. 2 — Campagne di vaccinazione contro la rabbia per via orale nella Volpe. Esiti di laboratorio. (IF=test di immunofluorescenza su sistema nervoso centrale, SNC; RFFIT = Rapid Fluorescent Focus Inhibition test).

Oral fox vaccination against rabies. Laboratory results. (1) Immune fluorescence test on central nervous system; (2) Result; (3) Tetracycline on bone; (4) Positive result; (5) Percentage; (6) RFFIT on sera; (7) Positive result; (8) Percentage; (9) Micromammals.

PROVINCIA	BS	BS	BS	TN	BZ	TN
IF su SNC (1)	46	21	114	142	10	18
Esiti (2)	0	0	0	0	0	0
Fluoro tetraciclina su osso (3)	46	21	114	112	10	109
Esiti positivi (4)	29	9	40	53	5	38
Percentuale (5)	63	43	35	48	50	35
RFFIT su sieri (6)	30	8	81	121	10	107
Esiti positivi (7)	12	6	21	32	3	45
Percentuale (8)	40	75	26	26,4	30	42
Micromammiferi (9)	138					
IF su SNC	0	0	0	0	0	0

RISULTATI

Il vaccino impiegato ha dimostrato una buona stabilità, per tutto il periodo di assunzione delle esche; anche la presenza di un inquinamento, causato dal tuorlo d'uovo usato come stabilizzante, non ha influito sull'esito della vaccinazione.

Nelle tre province interessate sono state eseguite in totale 6 campagne vaccinali, distribuendo complessivamente 60.347 esche con una percentuale di assunzione media del 67%.

Le volpi monitorate, hanno presentato una positività alla tetraciclina del 45,6% ed una sieroconversione del 43% (valore medio delle campagne vaccinali).

La rabbia scompare un mese circa dopo la prima vaccinazione effettuata in provincia di Brescia e nel Trentino.

Dal luglio 1986 e fino ad ora nessun caso di rabbia è stato segnalato nelle zone sottoposte a vaccinazione orale della Volpe, nonostante il costante monitoraggio tuttora in atto.

Nella Tab. 1 sono riportati i dati delle campagne vaccinali effettuate nelle province di Brescia, Trento e Bolzano.

La Tab. 2 riporta invece gli esiti delle ricerche di laboratorio. Dalla stessa si nota che le percentuali di positività alla tetraciclina sono piuttosto variabili (da un minimo del 35% ad un massimo del 63%); questo è probabilmente dovuto al fatto che le campagne vaccinali non sono mai state ripetute in modo esattamente sovrapponibile sia per zona sia per periodo; diversi fattori (geografici, climatici, ecc.) possono pertanto aver influenzato la raccolta dei dati.

Tab. 3 - Casi positivi di rabbia in Italia dai 1977 al 1988 in animali selvatici e domestici (nella categoria Erbivori selvatici sono compresi il Capriolo, il Camoscio e il Cervo; nel 1987 nessun caso di rabbia è stato trovato).

Positive rabies cases in Italy from 1977 to 1988 in wild and domestic animals (rabies not found in 1987). (1) Fares; (2) Mustelids; (3) Roe deer, Red deer, Chamois; (4) Rodents; (5) Cats; (6) Dogs; (7) Cattle; (8) Sheep-Roots; (9) Horses; (10) Total.

ANIMALI	1977	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1988	TOTALE POSITIVI	(%)
Volpi (1)	82	203	60	10	319	390	403	315	101	22	21	1826	(86)
Mustelidi (2)	5	25	10	1	36	43	31	28	15	5	-	199	(9,4)
Erbivori selvatici (3)	12	21	7	1	7	5	4	2	2	1	-	62	(2,9)
Roditori (4)	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	(0,05)
Gatti (5)	-	1	1	-	2	3	3	2	2	-	-	14	(0,7)
Cani (6)	-	-	-	-	-	4	4	4	1	-	-	13	(0,6)
Bovini (7)	-	-	-	-	2	-	-	1	1	-	-	4	(0,2)
Ovini-caprini (8)	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	2	(0,09)
Equini (9)	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	(0,05)
TOTALE GENERALE(10)	99	250	78	12	366	346	448	352	122	28	21	2122	

Anche per quanto riguarda la siero-conversione la percentuale di volpi positive per anticorpi è piuttosto variabile, passando da un minimo del **26%** ad un massimo del 75%; valore, quest'ultimo, ricavato però da un basso numero di campioni, probabilmente poco significativo. Va segnalato infatti che non sempre nelle campagne vaccinali effettuate la distribuzione e il controllo dell'assunzione delle esche, e il monitoraggio delle volpi, furono eseguiti in modo corretto; in aggiunta, qualche vaccinazione venne effettuata nella tarda primavera quando la temperatura troppo alta **può** aver alterato le esche-vaccino.

Nella Tab. 3 vengono riportati tutti i casi di rabbia verificatisi dalla sua comparsa in Italia (1977) fino al 1988.

CONCLUSIONI

Dalle campagne di vaccinazione eseguite nelle province di Brescia, Bolzano e Trento si possono trarre alcune considerazioni:

1) il virus SAD-B 19 è risultato innocuo (in campo non è mai stato trovato in animali non-bersaglio), stabile e immunogeno per la Volpe.

2) I risultati della vaccinazione hanno corrisposto all'aspettativa rendendo ingiustificati, dal punto di vista epidemiologico, i timori circa un'eventuale patogenicità residua in piccoli roditori selvatici o la selezione di varianti antigeniche.

3) Altri fattori, quali la densità degli insediamenti umani, l'orografia del terreno, il severo sfoltimento delle volpi, hanno sicuramente influito sulla rapida riduzione dei casi positivi di rabbia fino alla loro scomparsa totale dal luglio 1986.

4) È stata riconosciuta e raccomandata anche ad altri Paesi interessati alla vaccinazione orale della Volpe l'importanza della costituzione di un Comitato Tecnico Scientifico interdisciplinare per la programmazione e la sorveglianza della sperimentazione vaccinale.

5) È stata riconfermata la validità della vaccinazione orale della Volpe come mezzo di lotta e di profilassi contro la rabbia silvestre; il metodo deve rimanere per ora ancora sperimentale, ma è auspicabile che la sua applicazione consentirà in futuro di debellare l'infezione.

BIBLIOGRAFIA

STECK, E, WANDELER, A., BICHSEL, P., HÄFLIGER, U., SCHNEIDER, L. 1981. Oral immunization of foxes against rabies. Laboratory and field studies. Réunion conj. C.N.E.R. et O.M.S., Nancy, juin 1981 e Simposio internazionale sulla rabbia silvestre, St. Vincent 29 giugno-2 luglio 1981.