



Ministero della Salute

DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE SANITARIA
Ufficio V – Prevenzione delle malattie trasmissibili e profilassi internazionale

DIREZIONE GENERALE DELLA SANITÀ ANIMALE E DEI FARMACI VETERINARI
Ufficio III – Sanità animale e gest. oper. Centro Naz. di lotta ed emergenza contro le malattie animali e unità centrale di crisi

A:
ASSESSORATI ALLA SANITÀ REGIONI
STATUTO ORDINARIO E SPECIALE
LORO SEDI

ASSESSORATI ALLA SANITÀ PROVINCE
AUTONOME TRENTO E BOLZANO
LORO SEDI

e, per conoscenza
UFFICI DI SANITÀ MARITTIMA, AEREA
E DI FRONTIERA
LORO SEDI

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ
ROMA

CENTRO NAZIONALE SANGUE
ROMA

CENTRO NAZIONALE TRAPIANTI
ROMA

ISTITUTI ZOOPROFILATTICI SPERIMENTALI
LORO SEDI

OGGETTO: Piano Nazionale integrato di sorveglianza e risposta al virus della West Nile - 2016

1. INTRODUZIONE

Il virus della West Nile (WNV) è un Flavivirus appartenente alla famiglia *Flaviviridae* trasmesso da insetti vettori ed attualmente presente nel territorio italiano. Si tratta di un agente zoonotico il cui ciclo biologico è caratterizzato dalla trasmissione tra zanzare ornitofile ed alcune specie di uccelli selvatici che possono fungere da serbatoio ed amplificatore dell'infezione virale. Il virus può passare dalle popolazioni aviarie ai mammiferi, incluso l'uomo, attraverso i cosiddetti vettori-ponte, ovvero zanzare

che compiono o il pasto sia sugli uccelli che sui mammiferi. Il numero di specie recettive nei confronti del virus è estremamente ampio ed include, oltre a numerose specie aviarie, anche mammiferi e rettili. Del WNV sono stati descritti più lineage e, di questi, i ceppi appartenenti ai lineage 1 e 2 sono quelli più diffusi. Entrambi sono in grado di provocare quadri clinici anche gravi negli uccelli e nei mammiferi.

Tra questi l'uomo e il cavallo possono sviluppare, a seguito dell'infezione da WNV, disturbi neurologici nonostante la viremia in queste specie sia di breve durata e di scarsa intensità. Non sono dunque in grado di trasmettere l'infezione ai vettori e quindi sono considerati ospiti a fondo cieco.

Nella maggior parte dei casi, tuttavia, l'infezione da WNV decorre in modo del tutto asintomatico; nell'uomo circa il 20% dei soggetti infetti sviluppa una malattia febbrile, chiamata comunemente febbre di West Nile (WNF) mentre l'insorgenza della forma neuro-invasiva (solitamente encefalite, meningo-encefalite o paralisi flaccida) è inferiore all'1% dei casi di infezione.

Nell'uomo, oltre la trasmissione vettoriale, è documentata la trasmissione interumana mediante trasfusioni di sangue o di emocomponenti e trapianto di organi o tessuti così come sono possibili i casi di trasmissione verticale, madre-feto o attraverso il latte materno.

Il virus è responsabile di una sintomatologia clinica simile a quella descritta nell'uomo anche negli equidi nei quali la maggior parte delle infezioni decorre in modo asintomatico. Nei cavalli è stato stimato che circa il 10% degli animali infetti sviluppa la forma clinica caratterizzata da febbre, atassia, iperestesia, paresi o paralisi. I segni clinici possono risolversi con guarigione nell'arco di 5-15 giorni oppure progredire rapidamente fino alla morte dei soggetti malati.

Oltre alle numerose segnalazioni d'infezione nell'uomo e nel cavallo da ceppi di WNV appartenenti ai lineage 1 e 2, sono state descritte forme neuroinvasive in alcune specie di uccelli selvatici spesso associate a fenomeni di mortalità.

In Italia il primo focolaio di West Nile Disease (WND) è stato confermato nella tarda estate del 1998 nell'area circostante il Padule di Fucecchio in Toscana, con alcuni casi clinici nei cavalli. A seguito dell'epidemia, il Ministero della Salute, dal 2002, ha attivato il Piano nazionale di sorveglianza per la WND con l'obiettivo di rilevare l'introduzione e monitorare la circolazione del WNV sull'intero territorio nazionale. Il Piano di sorveglianza ha consentito di identificare nel 2008, a 10 anni di distanza dal primo focolaio, la circolazione del WNV appartenente al lineage 1 in Emilia Romagna, Veneto e Lombardia in uccelli, mammiferi e vettori. L'infezione è stata da allora segnalata ogni anno nell'uomo, negli animali e nei vettori coinvolgendo sia nuovi territori dell'Italia settentrionale e centro-meridionale sia le aree interessate dalla circolazione virale negli anni precedenti a dimostrazione dell'endemizzazione del virus. A completare il quadro relativo all'epidemiologia della WND a livello nazionale è utile citare l'ingresso e la successiva circolazione di un nuovo lineage virale, il lineage 2, che, a partire dal 2011, è stato identificato nel corso delle successive stagioni epidemiche in aree indenni e nelle aree già caratterizzate dalla circolazione del WNV lineage 1 negli anni precedenti. In Italia il vettore principale è la specie *Culex pipiens*, sebbene non sia la sola specie competente presente sul territorio.

Complessivamente in Italia, dal 2008 al 2015, è stata segnalata la circolazione del WNV in zanzare, uccelli e cavalli sul territorio di 14 Regioni, con 173 casi autoctoni di malattia neuro-invasiva da West Nile (WNND) nell'uomo, notificati da 8 Regioni (Piemonte, Lombardia, Friuli Venezia Giulia, Veneto, Emilia-Romagna, Basilicata, Puglia e Sardegna). Allo stesso modo la circolazione virale ha interessato la popolazione di equidi con 1.281 casi confermati di infezione e, tra questi, 177 affetti da sintomatologia nervosa.

Le informazioni sull'evoluzione della situazione epidemiologica in Europa, nei Paesi del Bacino del Mediterraneo e in Italia sono regolarmente aggiornate e consultabili nei Bollettini epidemiologici disponibili agli indirizzi:

http://sorveglianza.izs.it/emergenze/west_nile/emergenze.html; www.iss.it/arbo; e

<http://www.epicentro.iss.it/problemi/westNile/bollettino.asp>

http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/west_nile_fever/West-Nile-fever-maps/Pages/index.aspx

In considerazione della complessità del ciclo biologico del WNV, la sorveglianza mirata ad individuare la circolazione virale rende indispensabile l'interazione tra diverse professionalità e l'integrazione dei sistemi di sorveglianza in diversi ambiti: entomologico, veterinario ed umano. Quest'anno, per la prima volta, la sorveglianza veterinaria (animale ed entomologica) essenziale per la stima del rischio, e quella dei casi umani, sono integrate in un unico Piano.

L'obiettivo principale della sorveglianza integrata è quello di individuare precocemente, attraverso programmi mirati, la circolazione del WNV sul territorio nazionale negli uccelli, insetti o mammiferi per valutare il rischio di trasmissione della malattia all'uomo e mettere in atto tutte le misure disponibili per prevenire la trasmissione (controllo del vettore, misure nei confronti delle donazioni di sangue ed emocomponenti, organi e tessuti).

2. OBIETTIVI DELLA SORVEGLIANZA INTEGRATA

1. Individuare il più precocemente possibile la circolazione virale sul territorio nazionale attraverso programmi di sorveglianza mirata riguardanti gli equidi, gli uccelli appartenenti a specie bersaglio, e gli insetti vettori per permettere una rapida valutazione del rischio finalizzata all'adozione di adeguate misure preventive in sanità pubblica.
2. Definire il flusso delle informazioni tra tutti gli Enti interessati, per attuare in maniera tempestiva, efficace e coordinata le misure preventive necessarie per evitare la trasmissione della WND.
3. Prevenire il rischio di trasmissione della malattia all'uomo sia attraverso le donazioni di sangue, emocomponenti, organi o tessuti, sia attraverso le zanzare, con particolare attenzione durante il loro periodo di maggiore attività.
4. Governare in maniera coordinata le eventuali emergenze epidemiche.

3. SORVEGLIANZA DELLA CIRCOLAZIONE VIRALE

La sorveglianza è essenziale per il rilevamento precoce della circolazione di WNV e la stima del rischio sanitario associato all'uomo. Le procedure operative di intervento e i flussi informativi descritti hanno il fine di individuare il più precocemente possibile la circolazione del WNV sia nelle aree dove l'infezione è già apparsa nel passato sia nelle restanti parti del territorio nazionale al fine di mettere il Servizio Sanitario Nazionale (SSN) nelle condizioni migliori e più efficaci per porre in atto tutte le misure preventive necessarie a tutelare la salute pubblica.

Il piano si avvale della:

1. sorveglianza su uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio. È possibile, in alternativa attuare la sorveglianza su allevamenti avicoli rurali o all'aperto o tramite l'allestimento di gruppi di polli sentinella,
2. sorveglianza clinica e sierologica negli equidi,

3. sorveglianza entomologica,
4. sorveglianza su carcasse di uccelli selvatici,
5. sorveglianza dei casi umani.

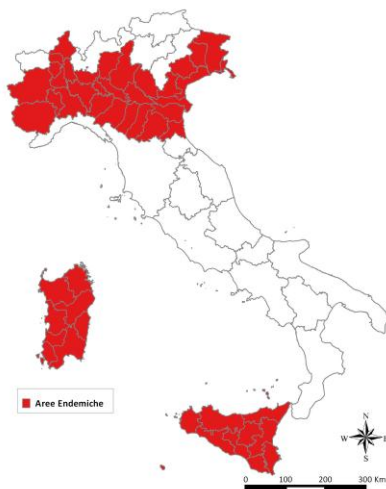
Le modalità di attuazione della sorveglianza differiscono a seconda della situazione epidemiologica locale. Le aree oggetto del piano sono individuate sulla base delle evidenze epidemiologiche riferite agli anni precedenti, nonché sulla base di informazioni epidemiologiche/ecologiche/ambientali. A tal fine sono individuate 2 aree geografiche distinte:

A Aree endemiche. Ai fini del presente piano per aree endemiche s'intende il territorio (Provincia) dove il WNV sta circolando o ha circolato nel corso degli anni precedenti e dove, quindi, si sono ripetutamente osservati episodi di infezione, nonché le aree limitrofe o subito a ridosso delle stesse (Figura 1). In queste aree la sorveglianza deve essere attuata tramite:

- a. il controllo su uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio, in alternativa su allevamenti avicoli rurali o all'aperto oppure su gruppi di polli sentinella appositamente allestiti,
- b. la sorveglianza entomologica,
- c. la sorveglianza attiva dei casi di malattia neuro-invasiva e/o di infezioni recenti umane sull'intero territorio regionale,
- d. la sorveglianza dei casi di sintomatologia nervosa negli equidi,
- e. la sorveglianza su carcasse di uccelli selvatici.

Limitatamente ai casi in cui le attività di sorveglianza sulle specie aviare così come descritto al punto "a" siano in contrasto con quanto previsto dalle norme di biosicurezza negli allevamenti avicoli in materia di prevenzione dell'introduzione dei virus influenzali nelle popolazioni domestiche, le Regioni/PP.AA. interessate possono definire misure o attività straordinarie preventivamente concordate con il Ministero della Salute e il CESME.

Figura 1. Aree classificate come endemiche (in rosso) per il virus della West Nile



B Resto del territorio nazionale. In queste aree le attività di sorveglianza prevedono il monitoraggio sierologico a campione su sieri di cavalli per rilevare la presenza di IgM, utili all'identificazione di una recente circolazione del WNV. Al fine di completare le informazioni epidemiologiche rappresentative per tutto il territorio di competenza, le Regioni possono

effettuare, previa formalizzazione al Ministero della Salute, e in accordo con il Centro di Referenza Nazionale per lo studio e l'accertamento delle malattie esotiche degli animali (CESME), un monitoraggio sierologico a campione:

- sui sieri di bovini ed ovi-caprini prelevati come sentinelle nell'ambito del piano di sorveglianza sierologica della bluetongue, oppure
- su altre specie animali (ad es. cani in aree urbane).

Su **tutto il territorio nazionale**, inoltre, è obbligatoria la notifica immediata:

- di tutti i casi sospetti di sintomatologia nervosa negli equidi
- di tutti i casi di malattia neuroinvasiva nell'uomo
- di tutti gli episodi di mortalità in uccelli selvatici non riferibili ad altre patologie infettive.

Le Regioni possono definire piani straordinari (da inviare preventivamente al Ministero della Salute, all'Istituto Superiore di Sanità (ISS) e al CESME per una opportuna valutazione) e finalizzati ad integrare la sorveglianza sulla base delle evidenze che si manifestano nel corso dell'attività stessa.

4. SORVEGLIANZA NELLE AREE ENDEMICHE

4.1 Aree endemiche: unità geografica di riferimento

Per poter meglio uniformare le attività di sorveglianza nell'ambito dell'area endemica, si considera come unità geografica di riferimento il territorio della provincia. Ogni provincia è stata suddivisa in zone di 1200-1600 Km² al fine di uniformare il numero di prelievi effettuati in province con superficie differente (Tabella 1).

4.2 Sorveglianza su uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio

Per specie bersaglio si intende quel gruppo di specie recettive al virus che, dal punto di vista gestionale, sono sottoposte a controlli di popolazione nella gran parte del loro areale di distribuzione.

Appartengono alle specie bersaglio:

- Gazza (*Pica pica*),
- Cornacchia grigia (*Corvus corone cornix*),
- Ghiandaia (*Garrulus glandarius*).

Il campionamento, sulla base dell'estensione dell'area endemica, dovrà essere eseguito ogni due settimane, secondo un calendario predefinito, si devono campionare in ogni provincia almeno 100 esemplari di specie bersaglio ogni 1200-1600 Km² avendo cura di eseguire le attività di campionamento nel periodo da marzo a novembre, tenendo in considerazione il periodo durante il quale è possibile effettuare il depopolamento. Per quanto possibile i soggetti prelevati dovranno essere animali giovani e nati nell'anno.

Da ogni animale il cuore, cervello, rene e milza sono esaminati mediante RT-PCR presso i laboratori dell'IZS competente per territorio. I campioni positivi (porzioni dell'organo, omogenato, RNA) sono inviati al più presto (comunque entro e non oltre 2 giorni lavorativi) al CESME per la conferma. Per ogni specie prelevata deve essere compilata una scheda W02 di accompagnamento. Il CESME effettua gli esami di conferma entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale (IZS) competente per territorio, alla Regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute.

Nel caso non fosse possibile effettuare il campionamento delle specie bersaglio, si possono, in alternativa, campionare animali di allevamenti avicoli rurali e all'aperto (vedi paragrafo 4.3) o allestire gruppi di polli sentinella da cui effettuare prelievi regolari (vedi paragrafo 4.4).

4.3 Sorveglianza in allevamenti avicoli rurali e all'aperto

Nelle aree dove la sorveglianza sugli uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio non può essere attivata o si prevede che non sarà in grado di raggiungere almeno il 50% dei controlli previsti, è possibile, in alternativa, controllare sierologicamente un campione rappresentativo di allevamenti avicoli **rurali** o **all'aperto**, inclusi gli allevamenti di selvaggina da penna.

Nella scelta delle aziende da campionare saranno privilegiati gli allevamenti in prossimità di aree umide o comunque dove si registra un'elevata concentrazione di avifauna selvatica, sia stanziale che di passo.

Il numero di allevamenti da campionare è calcolato in base al numero delle aziende presenti in ciascuna provincia così come riportato in Tabella 2. All'interno di ciascun allevamento sono sottoposti a prelievo gli animali di età inferiore ai 6 mesi. In Tabella 3 è riportato il numero di animali da prelevare. Le attività di campionamento devono iniziare a marzo e terminare entro la fine di novembre. I prelievi possono essere effettuati contestualmente a quelli del piano di monitoraggio dell'influenza aviaria.

Gli operatori, devono prelevare per ciascun animale 2 campioni di sangue da porre in altrettante provette: una senza anticoagulante e una con EDTA¹ (minimo 2 ml di sangue per provetta da conservare alla temperatura di +4 °C).

I campioni, accompagnati dalla scheda W01 già precompilata nella parte anagrafica (vedi le indicazioni contenute nel capitolo 11 del presente documento), sono inviati all'IZS competente per territorio che provvede ad effettuare l'esame di prima istanza (ELISA) sul siero e, in caso di positività, la RT-PCR sul sangue con EDTA. In caso di positività i campioni (siero e sangue con EDTA) sono inviati al più presto al CESME per la conferma (comunque entro e non oltre 2 giorni lavorativi). Il CESME effettua gli esami di conferma entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla Regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute.

4.4 Sorveglianza attraverso l'utilizzo di gruppi di animali sentinella

Nelle aree dove la sorveglianza sugli uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio non può essere attivata o si prevede che non sarà in grado di raggiungere almeno il 50% dei controlli previsti, è possibile, in alternativa, utilizzare esemplari di specie avicole (polli o galline a fine carriera) in gabbia. Per ogni provincia devono essere selezionati 4 siti di sorveglianza ogni 1200-1600 Km². In ciascun sito devono essere collocati 30 animali suddivisi in due gruppi di 15. Gli animali sentinella, al momento della selezione, non devono avere anticorpi nei confronti del WNV. Laddove possibile, è preferibile posizionarli in aziende zootecniche localizzate entro circa 800 m dalle aree di concentrazione dell'avifauna e/o di zone umide (raccolte d'acqua dolce o salmastra di qualunque tipo).

Da marzo a novembre devono essere effettuati prelievi di sangue con cadenza quindicinale, alternando i prelievi sui due sottogruppi.

¹Non usare l'eparina come anticoagulante perché interferisce con la PCR.

Gli operatori devono prelevare, per ciascun animale, 2 campioni di sangue da porre in altrettante provette: una senza anticoagulante e una con EDTA (minimo 2 ml di sangue per provetta da conservare a temperatura di +4°C). I campioni, accompagnati dalla scheda W01 precompilata nella parte anagrafica (vedi le indicazioni contenute nel capitolo 9 del presente documento), sono inviati all'IZS competente per territorio che provvede ad effettuare l'esame di prima istanza (ELISA) sul siero e, in caso di positività, la RT-PCR sul sangue con EDTA. In caso di positività i campioni (siero e sangue con EDTA) sono inviati al CESME per la conferma al più presto (entro e non oltre 2 giorni lavorativi). Il CESME effettua gli esami di conferma entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla Regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute.

4.5 Sorveglianza entomologica

La sorveglianza entomologica va effettuata in ciascuna unità geografica di riferimento suddividendo il territorio (< 800 m s.l.m. Centro Sud; < 400 m s.l.m. Nord) in aree regolari:

- se possibile di lato variabile fino ad un massimo di 20 km,
- in alternativa, identificando le aree che nel corso dei precedenti anni hanno segnalato casi clinici confermati (umani e/o equini), sier conversionsi negli animali sentinella o positività nei culicidi; le aree più vicine a luoghi abitati e/o luoghi di escursione e/o vacanza; aree umide e con un'elevata concentrazione di avifauna selvatica.

In ogni area individuata deve essere posizionata almeno una trappola di tipo CO₂-CDC o gravid. Le catture devono essere effettuate con cadenza quindicinale nel periodo da marzo fino a novembre (Centro Sud) e da maggio a settembre (Nord) e comunque almeno fino a quando due catture consecutive non rilevano la presenza di zanzare. La trappola deve essere attiva per almeno una notte (dal crepuscolo alla mattina successiva). In caso di più notti di cattura, le zanzare sono raccolte al termine di ogni notte di cattura.

I campioni, accompagnati dalla scheda W05, devono essere inviati all'IZS competente per territorio che provvede ad effettuare l'identificazione degli esemplari catturati, la preparazione di appositi pool composti da un massimo di 200 esemplari della stessa specie e la RT-PCR sui pool di insetti. È bene tener presente che pool composti da un numero inferiore di esemplari garantiscono una maggior probabilità di rilevare la presenza di WNV.

I risultati relativi alle specie identificate (specie, numero, sesso) e ai pool analizzati per la ricerca virologica, devono essere inseriti nel sistema informativo nazionale per la WND secondo quanto riportato al capitolo 11.

In caso di positività alla RT-PCR i campioni (omogenato del pool di insetti e relativo RNA) devono essere inviati al CESME al più presto (entro e non oltre 2 giorni lavorativi). Il CESME effettua gli esami di conferma entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla Regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute.

Deve essere assicurata la tempestività tra raccolta, analisi ed eventuale conferma che non deve superare i 14 giorni lavorativi.

5. ATTIVITÀ DI SORVEGLIANZA DELLA WND NELLA RESTANTE PARTE DEL TERRITORIO NAZIONALE

5.1 Sorveglianza sierologica a campione negli equidi

Considerata la difficoltà di trovare animali sieronegativi da arruolare nel piano di sorveglianza come animali sentinella, è istituito un piano di controllo a campione sui sieri di equidi nei confronti della WND secondo la numerosità campionaria di cui alla tabella 4, da svolgere su campioni prelevati da luglio a novembre per altri motivi (ad esempio per anemia infettiva equina) e volto ad evidenziare gli stadi iniziali d'infezione (evidenza sierologica di anticorpi IgM verso il WNV) in animali sieronegativi. Nel periodo da luglio a novembre devono essere campionati complessivamente 3.874 capi, secondo la ripartizione provinciale di cui alla Tabella 4.

Tali campioni, accompagnati dalla scheda W03 precompilata nella parte anagrafica e barrando l'opzione [D]: "controllo a campione" come motivo del prelievo, devono essere inviati all'IZS competente per territorio che provvederà ad effettuare la prova di ELISA-IgM. In caso di positività i campioni (siero positivo) devono essere inviati al CESME, al più presto (entro e non oltre 2 giorni lavorativi). Il CESME effettua gli esami di conferma entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla Regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute.

5.2 Sorveglianza sierologica a campione sui sieri di altre specie animali

In aggiunta a quanto riportato al capitolo precedente, al fine di completare le informazioni epidemiologiche rappresentative per tutto il territorio di competenza, le Regioni possono effettuare, previa formalizzazione al Ministero della Salute e in accordo con il CESME, un monitoraggio sierologico a campione:

- sui sieri di bovini ed ovi-caprini prelevati come sentinelle nell'ambito del piano di sorveglianza sierologica della bluetongue (almeno 1.937 capi secondo la numerosità campionaria di cui alla tabella 5). Tali campioni sono selezionati casualmente dal personale degli IZS competenti per territorio e successivamente esaminati mediante metodica ELISA.); oppure
- su altre specie animali (ad es. cani).

Per ogni specie prelevata deve essere compilata una scheda W04 di accompagnamento da inviare all'IZS competente per territorio che provvederà ad effettuare la prova di ELISA. In caso di positività i campioni (siero positivo) devono essere inviati al CESME, al più presto possibile (entro e non oltre 2 giorni lavorativi). Il CESME effettua gli esami di conferma entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla Regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute.

6. SORVEGLIANZA DEI CASI UMANI

Obiettivo della sorveglianza è identificare precocemente i casi importati ed autoctoni di malattia durante tutto l'anno, con particolare attenzione durante il periodo di maggiore attività del vettore (giugno-ottobre). Le date e le aree di sorveglianza potrebbero subire modifiche secondo l'andamento climatico e meteorologico stagionale e nel caso in cui le evidenze epidemiologiche lo rendessero necessario il Ministero della Salute, di concerto con l'ISS, provvederà a comunicare eventuali variazioni.

Le attività di sorveglianza dei casi umani si attuano quindi:

- per tutto l'anno sui casi importati o autoctoni su **tutto il territorio nazionale**.
- **dai primi di giugno a tutto ottobre**, in tutte le Regioni nelle quali sia stata identificata un'area endemica (vedi definizione sopra riportata) la sorveglianza dei casi umani deve essere rafforzata e deve essere posta particolare attenzione alla diagnosi di WND nella popolazione (vedi definizione di caso, Allegato 1). Pertanto tutte le forme cliniche di encefalite, meningite a liquor limpido, poliradicolo-neurite (simil Guillain-Barré), paralisi flaccida acuta dovranno essere sottoposte ai test diagnostici per la ricerca del WNV. Inoltre, le Regioni e PPAA che occasionalmente e/o per attivazione di sistemi di sorveglianza speciali, rilevino casi confermati in soggetti che non presentano forme neuro-invasive di WND (ad esempio febbri e/o positività in donatori), devono trasmettere tali dati al Ministero della Salute ed all'ISS tramite il flusso descritto nel paragrafo 11.

Qualora l'area endemica identificata nella Regione sia limitrofa al territorio di altre Regioni, la sorveglianza dei casi umani va estesa anche a questo territorio, a meno che non ci siano barriere orografiche tali da rendere improbabile la diffusione del virus in quella direzione (es. province il cui confine è tracciato da catene montuose).

Da quest'anno la definizione di caso di WND (Allegato 1) presenta due novità:

- l'inserimento dell'esame PCR e dell'isolamento virale nelle urine tra i test validi per la conferma del caso; e
- la modifica del criterio clinico che prevede anche la segnalazione delle febbri per facilitare la trasmissione tempestiva dei dati in quelle regioni che hanno attivato sistemi di sorveglianza speciale o che occasionalmente abbiano rilevato casi confermati in soggetti che non presentano forme neuro-invasive di WND. Per maggiori informazioni è possibile consultare il sito web www.iss.it/arbo.

7. SORVEGLIANZA CLINICA NEGLI EQUIDI

La sorveglianza clinica negli equidi si attua su **tutto il territorio nazionale**. Tutti i casi di sintomatologia nervosa negli equidi devono essere notificati e sottoposti ad indagini approfondite per escludere o confermare la WND, indipendentemente dall'area geografica dove questi si manifestano.

Negli equidi sono sintomi tipici della malattia:

- debolezza arti posteriori,
- incapacità a mantenere la stazione quadrupedale,
- paralisi/paresi agli arti,
- fascicolazioni muscolari,
- deficit propriocettivi,
- cecità,
- ptosi del labbro inferiore o paresi/paralisi dei muscoli labiali o facciali,
- digrignamento dei denti.

Nel caso di sintomatologia neurologica riferibile a WND in equidi, il servizio veterinario dell'Azienda Sanitaria Locale (ASL) competente per territorio deve darne immediata comunicazione alla Direzione Generale della Sanità Animale e dei Farmaci Veterinari e al servizio veterinario della Regione, attraverso la registrazione del sospetto nel Sistema Informativo Nazionale Malattie Animali (SIMAN). Il servizio veterinario dell'ASL esegue i prelievi di sangue con e senza anticoagulante EDTA² sugli

²Non usare l'eparina come anticoagulante perché interferisce con la PCR.

equidi che manifestano sintomatologia clinica riferibile a WND. I campioni di sangue con la relativa scheda W03 – scegliendo come Motivo del prelievo [A]: “equidi con sintomi clinici” sono inviati all’IZS competente per territorio che provvederà ad effettuare la prova di ELISA-IgM sul siero e la RT-PCR sul sangue con EDTA. In caso di positività i campioni devono essere inviati al CESME, al più presto possibile (comunque entro e non oltre 2 giorni lavorativi). Il CESME effettua gli esami di conferma entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all’IZS, alla Regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute.

Qualora il sospetto riguardi animali deceduti o soppressi in seguito a sindrome neurologica, il servizio veterinario dell’Azienda USL competente per territorio, in collaborazione con l’IZS competente per territorio esegue l’esame anatomico-patologico ed il prelievo del cervello, del tronco encefalico, del midollo spinale, del cuore, del rene e della milza. I campioni, accompagnati dalla scheda W03 – Motivo del prelievo [C]: “controllo su equidi deceduti/abbattuti” – debitamente compilata devono essere inviati all’IZS competente per territorio che provvede ad effettuare la RT-PCR. In caso di positività alla RT-PCR i campioni devono essere inviati al CESME al più presto possibile (entro e non oltre 2 giorni lavorativi) in quantità idonea, perfettamente confezionati e conservati, accompagnati dalla scheda W03. Il CESME effettua gli esami di conferma entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all’IZS, alla Regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute.

8. SORVEGLIANZA SU CARCASSE DI UCCELLI SELVATICI

La sorveglianza passiva sull’avifauna selvatica si esegue su **tutto il territorio nazionale** e deve essere intensificata durante il periodo di attività degli insetti vettori. Ogni animale trovato morto ed appartenente agli ordini dei Passeriformi, Ciconiiformi, Caradriiformi, Falconiformi e Strigiformi deve essere recuperato ed inviato all’IZS competente per territorio per l’esame anatomico-patologico. Da ogni animale il cuore, cervello, rene e milza sono esaminati tramite RT-PCR presso i laboratori dell’IZS competente per territorio. I campioni positivi (porzioni dell’organo, omogenato, RNA) sono inviati, il più presto possibile (entro e non oltre 2 giorni lavorativi) al CESME. I campioni devono essere accompagnati dalla scheda W02 debitamente compilata. Per ogni specie di uccello va compilata una distinta scheda W02 di accompagnamento. Analogamente si dovrà procedere in tutti gli episodi di mortalità anomala o di aumento dell’incidenza della mortalità nell’avifauna selvatica segnalati per ogni altra specie nelle aree di presenza e durante il periodo di attività dei vettori. Il CESME effettua gli esami di conferma entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all’IZS, alla Regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute.

9. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI DIAGNOSTICI

Nell’ambito delle attività di sorveglianza veterinaria un caso di WND è considerato **probabile o sospetto** quando si ha:

- sierconversione al test ELISA in polli o galline sentinella,
- positività al test ELISA in soggetti di allevamenti avicoli rurali o all’aperto di età inferiore ai sei mesi,

- positività al test ELISA IgM in equidi in assenza di sintomatologia clinica riconducibile a WND effettuato presso gli IZS competenti per territorio,
- positività al test ELISA IgM e/o al saggio RT-PCR in equidi con sintomatologia clinica riconducibile a WND effettuato/i presso gli IZS competenti per territorio,
- positività al test RT-PCR in organi o sangue di uccelli (catturati, campionati, ritrovati morti) effettuato presso gli IZS competenti per territorio,
- positività al test RT-PCR in pool di zanzare effettuato presso gli IZS competenti per territorio.

Tutti i casi sospetti o probabili veterinari devono essere confermati dal CESME.

Un caso umano di WND è considerato **probabile** quando:

- risponde ai criteri clinici (vedi definizione di caso, Allegato 1) e presenta risposta anticorpale IgM specifica al WNV nel siero.

I casi umani probabili dovranno essere confermati inviando il campione al Laboratorio di Riferimento Regionale (Allegato 3) e/o al Laboratorio di Riferimento Nazionale che provvederanno nel più breve tempo possibile (massimo 7 giorni) ad inviare il risultato dei test effettuati.

Nell'ambito delle attività di **sorveglianza veterinaria un caso è considerato **confermato**** quando si ha:

- sieroneutralizzazione al test ELISA in polli o galline sentinella e confermata dal saggio di sieroneutralizzazione effettuato dal CESME,
- positività al test ELISA in soggetti di allevamenti avicoli rurali o all'aperto di età inferiore ai sei mesi confermata dal saggio di sieroneutralizzazione effettuato dal CESME,
- positività al test ELISA IgM in equidi, confermata dagli esami sierologici effettuati dal CESME,
- positività al test ELISA IgM e/o agli esami molecolari (RT-PCR) in equidi con sintomatologia clinica riconducibile a WND riscontrata presso gli IZS competenti per territorio e confermata dal CESME,
- positività al test RT-PCR in organi o sangue di uccelli (catturati, campionati, ritrovati morti), riscontrata presso gli IZS competenti per territorio e confermata dal CESME,
- positività al test RT-PCR in pool di zanzare riscontrata presso gli IZS competenti per territorio e confermata dal CESME.

Un caso umano è **confermato** quando si ha:

- rispondenza ai criteri clinici (vedi definizione di caso, Allegato 1);
- isolamento del WNV nel siero, nelle urine e/o nel liquor;
- identificazione dell'acido nucleico del WNV nel sangue, nelle urine e/o nel liquor;
- risposta anticorpale specifica al WNV (IgM) nel liquor;
- titolo elevato di IgM WNV e identificazione di IgG WNV nel siero e conferma mediante neutralizzazione.

10. MISURE DA ADOTTARE IN CASO DI POSITIVITÀ

Aree endemiche

Nel ribadire che l'obiettivo principale della sorveglianza integrata medico-veterinaria è quello di individuare precocemente la circolazione del WNV sul territorio nazionale negli uccelli, insetti o mammiferi per valutare il rischio di trasmissione della malattia all'uomo e mettere in atto tutte le misure utili a prevenire la trasmissione del virus, sono di seguito riportate le misure da adottare a seguito della conferma diagnostica dei casi di WND in **aree endemiche**.

Qualora si abbiano casi confermati in **equidi**, il servizio veterinario dell'ASL effettua:

- un'indagine epidemiologica volta a definire il probabile sito di infezione dell'animale infetto,
- un campionamento entomologico utilizzando trappole del tipo CO₂-CDC, Gravid traps, BG-Sentinel e direttamente con aspiratori al fine di individuare le specie di zanzare coinvolte ed eventualmente la prevalenza dell'infezione nei vettori. Il protocollo di campionamento entomologico (metodi di cattura, frequenza e durata) è stabilito di volta in volta tra l'IZS competente per territorio e il CESME,
- una visita clinica ed il prelievo di campioni di sangue in un campione degli equidi presenti nell'azienda secondo la numerosità descritta in Tabella 3. I campioni di sangue sono inviati all'IZS di competenza con la relativa scheda W03 – Motivo del prelievo [E]: “controllo su equidi presenti nella stessa azienda in cui si trova il caso confermato”. L'IZS competente per territorio provvederà ad effettuare la prova di ELISA-IgM. In caso di positività i campioni devono essere inviati al CESME, il più presto possibile (entro e non oltre 2 giorni lavorativi). Il CESME effettua gli esami entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione e trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla Regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute.

Qualora si abbiano casi confermati in soggetti di **allevamenti avicoli rurali o all'aperto**, oppure in **animali sentinella delle specie aviarie**, il servizio veterinario della ASL, ricevuta la comunicazione della conferma di positività, in accordo con il proprietario provvede ad abbattere ed inviare le carcasse degli animali positivi accompagnati dalla scheda W01, all'IZS competente per territorio. Il personale dell'IZS esegue gli esami anatomo-patologici su tutti i soggetti pervenuti ed esamina il cuore, cervello, rene e milza di ciascun animale mediante RT-PCR. I campioni positivi (porzioni dell'organo, omogenato, RNA) sono inviati, contestualmente a copia della scheda W01 (vedi le indicazioni contenute nel capitolo 11 del presente documento), al più presto (entro e non oltre 2 giorni lavorativi) al CESME per la conferma. Il CESME effettua gli esami di conferma e trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla Regione territorialmente competente entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute. Il servizio veterinario della ASL effettua inoltre un campionamento entomologico analogamente a quanto descritto nel paragrafo precedente per i casi confermati negli equidi.

In assenza di piani regionali già operanti, le attività da intraprendere nell'eventualità in cui i casi confermati siano riferiti a **specie aviari stanziali** appartenenti a specie bersaglio, carcasse di **uccelli selvatici trovati morti** o **zanzare** potranno essere disposte dal Ministero della Salute, di concerto con il CESME e la Regione interessata al fine di stabilire l'origine e meglio definire l'estensione dell'infezione.

A seguito dell'identificazione della circolazione virale, è necessario attivare interventi diretti alla riduzione del rischio di diffusione, che includano sia azioni mirate contro il vettore che misure precauzionali finalizzate a prevenire la trasmissione dell'infezione. In particolare:

- avviare tempestivamente le attività di sorveglianza e controllo della WND nell'uomo in tutto il territorio provinciale e regionale;

- potenziare l'informazione affinché le persone che vivono o lavorano nell'area provinciale interessata adottino le misure più idonee a ridurre il rischio di essere punte (vedi §10.4 *“Raccomandazioni per la popolazione generale per la prevenzione nei confronti delle punture di insetti”*);
- attivare le misure nei confronti delle donazioni di sangue ed emocomponenti, organi e tessuti (vedi § 10.2 *“Misure nei confronti delle donazioni di sangue ed emocomponenti, organi e tessuti”*);

In questi casi si possono attivare le attività di controllo e monitoraggio dei vettori come previsto per l'Area di tipo B al paragrafo § 10.3 Lotta agli insetti vettori.

Si ribadisce quindi l'importanza di allertare anche i servizi di Igiene pubblica e le autorità sanitarie regionali competenti per la sorveglianza ed il controllo della malattia nell'uomo.

Resto del territorio

Qualora i casi confermati, siano essi nell'ambito della sorveglianza umana che nell'ambito di quella veterinaria e dunque qualsiasi sia la specie coinvolta, riguardino siti posti in territori provinciali non interessati in passato dalla circolazione del WNV, i servizi sanitari competenti per la sorveglianza umana e veterinaria dell'Azienda USL competente per territorio dovranno svolgere di concerto una serie di attività per controllare la diffusione della malattia:

- svolgere una accurata indagine epidemiologica per comprendere il/i potenziale/i luogo/hi di esposizione,
- una volta identificata l'area di potenziale esposizione, sottoporre a sorveglianza entomologica l'azienda o il sito interessato utilizzando trappole del tipo CO₂-CDC, Gravid traps, BG-Sentinel e direttamente con aspiratori al fine di individuare le specie di zanzare coinvolte ed eventualmente la prevalenza dell'infezione nei vettori. Il protocollo di campionamento entomologico (metodi di cattura, frequenza e durata) è stabilito di volta in volta tra l'IZS competente per territorio e il CESME,
- sottoporre a prelievo ematico un campione di equidi stanziali non vaccinati per West Nile, presenti nel raggio di 4 km dall'allevamento con i casi confermati. Il campione di animali da prelevare è calcolato sulla base della Tabella 3. I campioni di sangue sono inviati all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di competenza con la relativa scheda W03 – Motivo del prelievo [B]: “controllo a campione su equidi stanziali presenti nelle aziende a 4 Km rispetto al focolaio”. L'IZS competente per territorio provvederà ad effettuare la prova di ELISA-IgM. In caso di positività i campioni devono essere inviati al CESME, il più presto possibile (entro e non oltre 2 giorni lavorativi). Il CESME effettua gli esami e trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla Regione territorialmente competente entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute.

Nel caso di riscontro di positività al test ELISA, confermata dal saggio di sieroneutralizzazione effettuato dal CESME, in bovini e ovi-caprini prelevati come sentinelle nell'ambito del piano di sorveglianza sierologica della bluetongue o in altre specie animali, o nell'uomo (confermati dai Laboratori di riferimento Regionale o Nazionale), se in territori provinciali non interessati in passato dalla circolazione del WNV, il Ministero della Salute, di concerto con il CESME, l'ISS e il servizio veterinario della Regione interessata, potrà disporre ulteriori e specifiche indagini al fine di stabilire l'origine e l'estensione dell'infezione riscontrata (vedi sopra).

All'identificazione dell'area interessata dalla circolazione virale, deve far seguito **l'attivazione delle misure utili a ridurre il rischio di diffusione così come previsto per le aree endemiche.**

10.1 Informazione nei confronti di persone esposte a rischio documentato di trasmissione del virus

Nei territori nei quali viene evidenziata circolazione virale, a maggior ragione se è dimostrata la presenza di zanzare infette, va potenziata l'informazione affinché le persone che vi vivono o lavorano adottino le misure più idonee a ridurre il rischio di essere punte (vedi §10.4 “*Raccomandazioni per la popolazione generale per la prevenzione nei confronti delle punture di insetti*”) e per permettere una diagnosi tempestiva di eventuali casi clinici. L'informazione deve raggiungere, direttamente o attraverso il personale sanitario, gli specialisti, le associazioni dei malati, ecc., in particolare le persone a rischio più elevato di sviluppare la malattia neuro invasiva quali gli anziani e gli immunodepressi.

10.2 Misure nei confronti delle donazioni di sangue ed emocomponenti, organi e tessuti

In merito alle misure dettagliate da adottare nei confronti delle donazioni di sangue/emocomponenti (ivi comprese le cellule staminali del sangue periferico e del sangue cordonale) e di organi e tessuti, si rinvia alle note e ai provvedimenti assunti ed emanati dal Centro Nazionale Sangue e dal Centro Nazionale Trapianti, ciascuno per i rispettivi ambiti di competenza, trasmessi a tutti i soggetti interessati e disponibili sul sito <http://www.centronazionalesangue.it/notizie/sorveglianza-west-nile-virus-2016>.

Per alcune Regioni che presentano un sistema di sorveglianza entomologico ed ornitologico rafforzato (Piemonte, Lombardia, Friuli Venezia Giulia, Veneto ed Emilia-Romagna) le misure di prevenzione della trasmissione attraverso sangue ed emocomponenti terranno in considerazione i riscontri derivanti dalla suddetta sorveglianza integrata, secondo modalità che saranno descritte negli specifici provvedimenti. I donatori di sangue, organi e tessuti risultati positivi allo screening NAT, effettuato sulle rispettive donazioni, dovranno essere segnalati (Allegato 2), dalla struttura che pone la diagnosi alla Direzione Sanitaria competente, la quale provvederà ad attivare il flusso secondo quanto descritto nel paragrafo 11.

10.3 Lotta agli insetti vettori

Il vettore del WNV, la zanzara *Culex pipiens*, pur essendo molto comune e ubiquitario in Italia rispetto alle zanzare invasive del genere *Aedes*, risulta essere, nel complesso, più generalista nella ricerca del pasto di sangue, dunque meno spiccatamente antropofilo, meno aggressiva e con un ciclo biologico più lungo (15-20 gg in estate) rispetto alle zanzare invasive del genere *Aedes*. Tuttavia, per quanto detto sopra e trattandosi di specie ad attività crepuscolare/notturna, che punge sia all'aperto che all'interno dei locali dove poi riposa e digerisce il pasto di sangue (endofilia), risulta estremamente complesso stilare un piano d'intervento univoco per il controllo di *Cx. pipiens* in situazioni così diverse tra loro. Il controllo della specie segue uno schema diverso, a seconda che l'intervento vada condotto in area urbana o rurale. In linea di massima l'intervento in ambiente urbano può seguire lo schema generale da sempre utilizzato, per il controllo di questa specie indigena e ubiquitaria nel nostro paese (larvicidi e adulticidi abbattenti), mentre quella in aree rurali, generalmente volto solo contro le forme preimaginali della specie, può richiedere, in presenza del virus, anche inusuali interventi adulticidi con prodotti insetticidi dotati di azione residua nel tempo.

Come noto *Cx. pipiens* non si infetta pungendo un essere umano o un cavallo portatori del virus, per via della bassa viremia del WNV in questi ospiti terminali, mentre può trasmettere loro il virus dopo averlo acquisito da un uccello, serbatoio naturale, che sviluppa un livello di viremia più elevato e di durata maggiore. Ne consegue che lo scopo principale degli interventi di controllo con insetticidi è quello di

ridurre drasticamente la densità della popolazione del vettore e quindi la percentuale di zanzare già infette o che potrebbero infettarsi su uccelli viremici presenti nell'area.

I protocolli da seguire per il controllo di *Culex pipiens* seguono schemi diversi a seconda dall'entità del rischio che si può configurare in una certa area. Infatti la presenza ubiquitaria di *Cx. pipiens* a quote inferiori ai 1000 m s.l.m., e la densità elevata che questo vettore indigeno può raggiungere stagionalmente, insieme al possibile verificarsi di casi di malattia da WNV, delincono per sommi capi, tre situazioni con livelli di rischio diversi:

- **Area di tipo A:** in cui è presente il vettore, in assenza di casi di WNV; questa tipologia caratterizza oggi la gran parte dei centri abitati del paese.
- **Area di tipo B:** in cui è presente il vettore e dove si verifichi un singolo caso umano di WNV;
- **Area di tipo C:** dove in presenza del vettore, venga segnalata l'insorgenza di un focolaio epidemico umano di WNV.

In ognuna di queste aree bisogna intervenire in maniera diversificata e dunque anche l'urgenza e le modalità degli interventi di controllo vanno distinte per area come sopra:

- Area di tipo A): dove gli interventi di routine saranno di tipo ordinario, messi in atto stagionalmente per mantenere la densità delle zanzare a livelli di sopportabilità. Si tratta dunque di interventi di prevenzione (legati alla zanzara come fonte di fastidio), che vanno basati per la gran parte sull'informazione al fine di ridurre la presenza di focolai di sviluppo larvale peridomestici e trattare quelli inamovibili presenti sul territorio (oltre ai tombini stradali, anche fossi, canalette, stagni, ed ogni altra raccolta d'acqua che possa risultare positiva alla presenza di larve, riservando a situazioni particolari di grave fastidio (come ad esempio giardini di scuole estive, centri per anziani, ospedali) l'uso di adulticidi abbattenti.
- Area di tipo B): dove in presenza di un singolo caso umano confermato risulta necessario ricorrere ad un intervento più complesso, particolarmente mirato, nell'area di residenza del soggetto segnalato, con azioni di sorveglianza e controllo al fine di evitare che altre zanzare locali già infette possano pungere altri soggetti sani o diffondersi nelle aree limitrofe.
- Area di Tipo C): gli interventi di controllo del vettore in presenza di un focolaio epidemico umano, con più casi di WNV, che rappresenta l'emergenza vera e propria, richiedono un impegno straordinario con ripetuti e più accurati interventi.

Le modalità e i tempi d'intervento in questi ultimi due casi (aree di tipo B e C) variano notevolmente rispetto agli interventi di routine puntando ad una drastica e rapida riduzione della densità della popolazione del vettore.

Ulteriori specifiche sulle modalità degli interventi di controllo, sia in zona rurale che più densamente abitata, sono riportate in Allegato 4. Le Regioni e PP.AA. possono modificare i protocolli operativi in base ad evidenze scientifiche e tenendo conto dei risultati ottenuti precedentemente, dandone comunicazione al Ministero, all'ISS e al CESME.

Uno schema riassuntivo delle operazioni da effettuare per il controllo del vettore nelle aree e nei casi suddetti è riportato nella Tabella 6.

10.4 Raccomandazioni generali alla popolazione per la prevenzione delle punture di insetti

Per ridurre il rischio di trasmissione del WNV, la misura preventiva più efficace è quella di evitare la puntura di zanzare. In particolare l'approccio alla prevenzione è influenzato dal livello di concentrazione dei vettori e, quindi, in alcuni casi, può essere necessario adottare più misure di prevenzione, quali:

- all'aperto, utilizzare con moderazione repellenti cutanei per uso topico; è necessario, comunque, attenersi scrupolosamente alle norme indicate sui foglietti illustrativi dei prodotti repellenti, non utilizzarli sulle mucose o su regioni cutanee lese e porre particolare attenzione al loro impiego sui bambini. Inoltre, le donne in gravidanza ed i bambini (<12 anni d'età), prima di usare un repellente cutaneo dovrebbero consultare un medico;
- all'aperto, dal crepuscolo in poi, indossare indumenti di colore chiaro che coprano il corpo il più possibile (con maniche lunghe e pantaloni lunghi e calze);
- alloggiare in stanze dotate di impianto di condizionamento d'aria o, in mancanza di questo, di zanzariere alle finestre ed alle porte d'ingresso, curando che queste siano tenute in ordine e siano ben chiuse;
- nel solo caso di presenza di zanzare in ambienti interni, vaporizzare spray a base di piretro o di altri insetticidi per uso domestico, oppure utilizzare diffusori di insetticida operanti a corrente elettrica, areando bene i locali prima di soggiornarvi.

11. REGISTRAZIONE DEI DATI E FLUSSI INFORMATIVI

a. Forme cliniche di malattia neuro-invasiva nell'uomo

La sorveglianza raccoglie i casi probabili e confermati (Allegato 1) secondo il seguente flusso:

1) il medico che sospetta il caso sulla base delle evidenze cliniche ed epidemiologiche, deve segnalarlo alla ASL entro 12 ore ed inviare i campioni per la diagnosi di laboratorio:

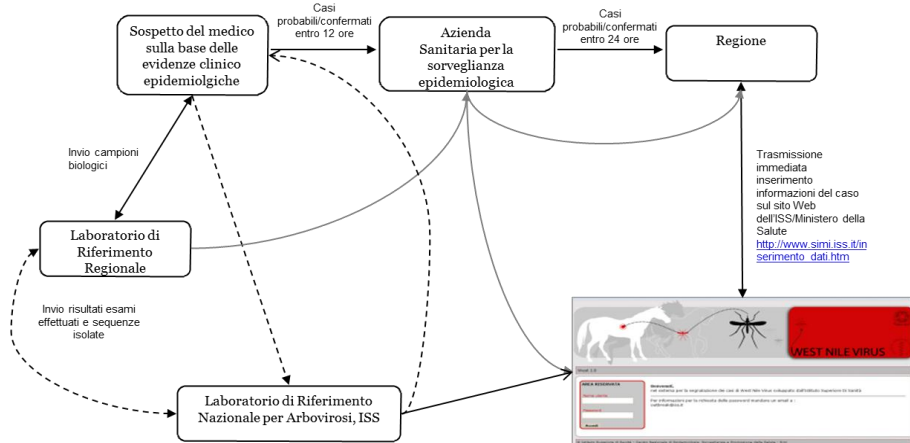
- al laboratorio di riferimento regionale, ove identificato (Allegato 3);
- e/o al laboratorio di riferimento nazionale (tel. 06 49903205/2663, fax 06 49902813; e-mail: arbo.mipi@iss.it);

2) in caso di positività per uno dei criteri di laboratorio previsti dalla definizione di caso probabile (Allegato 1), sulla base dell'organizzazione regionale, la struttura della ASL che si occupa della sorveglianza epidemiologica invia la segnalazione, accompagnata dalla scheda epidemiologica (Allegato 2), entro 24 ore, alla Regione/PA e da questa immediatamente inviata tramite inserimento sul sito web <https://www.iss.it/site/rmi/mib/>. In ogni caso si lascia alle singole Regioni la scelta sulle modalità operative da seguire per l'inserimento della segnalazione di eventuali casi di WN probabili o confermati nella piattaforma dedicata, fermo restando la tempistica sopra descritta. Solo nel caso in cui non sia possibile l'invio tramite il sito web (esempio: mancanza di accesso ad internet o non disponibilità delle credenziali di accesso al sito), sarà possibile inviare l'Allegato 2 via fax o email sia al Ministero della Salute (fax: 06 59943096 e-mail: malinf@sanita.it) che all'ISS (fax 06 44232444 – 0649902813 email: sorveglianza.epidemiologica@pec.iss.it);

3) per ogni caso probabile andranno predisposti gli accertamenti diagnostici di laboratorio per la conferma del caso. Nell'eventualità di una conferma, l'Allegato 2 dovrà essere aggiornato e ritrasmesso immediatamente secondo il flusso descritto (si veda anche lo schema sotto riportato).

Il laboratorio di riferimento regionale invia i risultati degli esami effettuati (incluse le sequenze) e/o i campioni biologici per la conferma, al laboratorio di riferimento nazionale per gli arbovirus che esegue i saggi di conferma con la massima tempestività dall'arrivo del campione, ed aggiorna il sito web <https://www.iss.it/site/rmi/mib/>. Durante la stagione di massima attività vettoriale (giugno-ottobre) i casi probabili e confermati dovranno essere trasmessi con la massima tempestività.

Di seguito è riportato lo schema di segnalazione dei casi di malattia neuro-invasiva da West Nile:



Si sottolinea che la tempestività della segnalazione e conferma dei casi è cruciale per mettere in atto le misure di prevenzione e controllo della malattia (ad esempio, NAT sulle donazioni di sangue/emocomponenti, cellule, tessuti ed organi, e lotta all'insetto vettore). Per le Regioni e P.P.A.A. che occasionalmente e/o per attivazione di sistemi di sorveglianza speciali o nell'ambito delle attività di controllo sui donatori di sangue ed organi, rilevino casi confermati in soggetti che non rispondono ai criteri clinici descritti nella definizione di caso (allegato 1), resta ferma la necessità di trasmettere tali dati al Ministero della Salute ed all'ISS tramite il sito web <https://www.iss.it/site/rmi/mib/>.

Su tutti i casi probabili e confermati va effettuato un follow-up a 30 giorni e va, di conseguenza, aggiornata la scheda di segnalazione del caso all'interno del sito web sopra riportato.

b. Allevamenti avicoli / gruppi di animali sentinella delle specie aviarie

Gli allevamenti avicoli rurali o all'aperto, devono essere preventivamente registrati presso la Banca Dati Nazionale (BDN), anche per il tramite del Sistema Informativo Veterinario (http://sorveglianza.izs.it/emergenze/west_nile/caricamento_dati.htm).

I gruppi di animali sentinella delle specie aviarie, nel caso in cui le sentinelle si trovino all'interno di aziende zootecniche, devono essere identificati dallo stesso codice aziendale attribuito all'azienda zootecnica ospitante e registrato in BDN. In caso contrario, il gruppo di sentinelle deve comunque essere registrato in BDN come struttura sentinella assegnandogli un codice aziendale.

A ciascun sottogruppo è attribuito un numero progressivo di identificazione, da mantenere fisso per tutta la durata dei controlli. Ogni singolo animale deve essere contraddistinto da un numero univoco (per esempio utilizzando un anello da porre sulla zampa) per tutta la durata del campionamento.

I campioni devono essere accompagnati dalla scheda W01 precompilata per tutti i dati anagrafici, che può essere stampata dalla BDN anche per il tramite del sistema informativo nazionale.

c. Sorveglianza su uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio

I campioni prelevati da uccelli appartenenti a specie bersaglio ai sensi del paragrafo 4.2 del presente documento devono essere accompagnati dalla scheda W02 debitamente compilata.

d. Controlli a campione su sieri di equidi prelevati per altri motivi

I campioni devono essere accompagnati dalla scheda W03 precompilata per tutti i dati anagrafici. Tutti i capi sottoposti a controllo devono essere identificati con codice identificativo (microchip o passaporto).

e. Equidi – sorveglianza sindromica (sindromi neurologiche e equidi deceduti o soppressi)

Il Servizio Veterinario della ASL preleva, secondo le modalità descritte precedentemente, i campioni di siero, sangue e organi dagli animali delle aziende equine dove si sono verificati casi di WND. I campioni devono essere accompagnati dalla scheda W03 e consegnati all'IZS territorialmente competente che li invia al CESME.

f. Insetti

I campioni devono essere accompagnati dalla scheda W05 e consegnati all'IZS territorialmente competente.

g. Flussi dati – sorveglianza veterinaria

Gli Istituti Zooprofilattici Sperimentali devono registrare con cadenza settimanale tutti i dati degli esami effettuati su campioni del loro territorio di competenza, ai sensi del presente provvedimento, nel sistema informativo nazionale per la WND, secondo le modalità tecniche definite dal CESME. Al fine di garantire un corretto flusso delle informazioni, sia gli esiti degli accertamenti di prima istanza, eseguiti dagli IZZSS territorialmente competenti, sia gli esiti degli accertamenti di conferma, eseguiti dal CESME e comunicati ufficialmente, devono essere registrati sul Sistema Informativo Nazionale Malattie Animali (SIMAN) dagli IZZSS territorialmente competenti con l'identificativo (Anno/Codice sede di accettazione/Numero di Registro) utilizzato dagli stessi al momento della prima accettazione del campione. La registrazione in SIMAN della sede di esecuzione dell'accertamento (CESME o IZS territorialmente competente) permetterà di distinguere gli esiti degli accertamenti di conferma da quelli di prima istanza. Tale flusso deve essere garantito per tutti i dati inerenti al Piano Nazionale integrato di sorveglianza e risposta al West Nile Virus - 2016 e ad eventuali Piani regionali.

Il Servizio Veterinario della ASL deve registrare nel SIMAN puntualmente, e comunque entro 2 giorni lavorativi i casi confermati di avicoli, uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio, uccelli selvatici, e pool di zanzare. I casi confermati negli equidi devono essere registrati in SIMAN entro 24 ore. La definizione di casi probabili e confermati è stabilita nel capitolo 8 del presente documento. La data del sospetto deve corrispondere alla data del prelievo e la data di conferma deve corrispondere alla data di emissione del rapporto di prova del CESME. La chiusura dei focolai confermati di WND deve avvenire entro la fine di febbraio dell'anno successivo al riscontro della positività.

Bollettino epidemiologico e flusso delle informazioni per la sorveglianza integrata del WNV

Per l'identificazione tempestiva della circolazione virale utile alla definizione delle aree affette e alle conseguenti attività di sorveglianza, è necessario che le positività riscontrate nell'ambito della sorveglianza veterinaria, entomologica ed umana vengano condivise attraverso una piattaforma comune, con accesso protetto, per la consultazione in tempo reale dei dati relativi alla sorveglianza umana, entomologica e veterinaria tra il Ministero della Salute, l'ISS, il CESME dell'IZSAM, ai fini della predisposizione di un unico bollettino integrato, che contenga i risultati della sorveglianza integrata. I risultati delle attività di sorveglianza integrata umana, entomologica e veterinaria della malattia da virus West Nile, saranno quindi pubblicati settimanalmente su un bollettino redatto in collaborazione tra Ministero della Salute, ISS e CESME dell'IZSAM che verrà diffuso sui rispettivi siti istituzionali.

Si prega di voler dare la massima diffusione alla presente nota circolare ai servizi ed ai soggetti interessati.

IL DIRETTORE GENERALE DGPREV
* Dott. RANIERO GUERRA

PER IL DIRETTORE GENERALE DGISAF
Dott. SILVIO BORRELLO
IL DIRIGENTE
*Dott. Pierdavide Lecchini

Il Direttore dell'Ufficio V
*Dott. Francesco Maraglino

Il Direttore dell'Ufficio III
*Dott. Pierdavide Lecchini

Referente del procedimento:
Patrizia Parodi – 06.59943144
email: p.parodi@sanita.it

Referente del procedimento
Olivia Bessi
Email: o.bessi@sanita.it

**“firma autografa sostituita a mezzo stampa, ai sensi dell’art. 3, comma 2, del d. Lgs. N. 39/1993”*

Tabella 1. Numero di zone (1200-1600 Km²) nelle aree endemiche

Regione/Provincia	Superficie totale (Km²)	Numero di zone
Lombardia	23.863,65	10,5
Cremona	1.770,46	1
Mantova	2.341,44	1,5
Lodi	782,99	0,5
Brescia	4.785,62	3
Pavia	2.968,64	1,5
Milano	1.575,65	1
Bergamo	2.745,94	1,5
Monza e della Brianza	405,41	0,5
Veneto	18.407,42	7,5
Verona	3.096,39	2
Treviso	2.479,83	1,5
Venezia	2.472,91	1,5
Padova	2.144,15	1,5
Rovigo	1.819,35	1
Friuli-Venezia Giulia	7.862,30	3,25
Udine	4.907,24	1,5
Gorizia	467,14	0,25
Trieste	212,51	0
Pordenone	2.275,42	1,5
Emilia-Romagna	22.452,78	8
Piacenza	2.585,86	0,5
Parma	3.447,48	1
Reggio nell'Emilia	2.291,26	0,5
Modena	2.688,02	1
Bologna	3.702,32	1
Ferrara	2.635,12	1,5
Ravenna	1.859,44	1
Forlì-Cesena	2.378,40	1
Rimini	864,88	0,5
Sicilia	25.832,39	15
Trapani	2.469,62	1,5

Palermo	5.009,28	3
Messina	3.266,12	2
Agrigento	3.052,59	2
Caltanissetta	2.138,37	1
Enna	2.574,70	1,5
Catania	3.573,68	2
Ragusa	1.623,89	1
Siracusa	2.124,13	1
Sardegna	24.100,02	14,5
Sassari	4.285,91	2,5
Nuoro	3.931,68	2,5
Cagliari	4.570,41	2,5
Oristano	3.034,25	2
Olbia-Tempio	3.406,18	2
Ogliastra	1.854,55	1
Medio Campidano	1.517,34	1
Carbonia-Iglesias	1.499,71	1
Piemonte	25.387,07	16
Torino	6.827,00	4
Vercelli	2.081,64	1,5
Novara	1.340,28	1
Cuneo	6.894,94	4,5
Asti	1.510,19	1
Alessandria	3.558,83	2
Biella	913,28	0,5
Verbano-Cusio-Ossola	2.260,91	1,5

Tabella 2. Numero di allevamenti da campionare per la ricerca del WNV.

N. totale di allevamenti sul territorio	N. di allevamenti da campionare
≤ 34	tutti
35 – 50	35
51 – 80	42
81 – 250	53
≥ 250	60

Tabella 3. Numero di capi da sottoporre a prelievo per la ricerca di WNV.

Popolazione³	N. di capi da prelevare
≤ 10	tutti
11	10
12	11
13 – 14	12
15 – 16	13
17 – 18	14
19 – 20	15
21 – 23	16
24 – 26	17
27 – 30	18
31 – 35	19
36 – 41	20
42 – 48	21
49 – 58	22
59 – 72	23
73 – 93	24
94 – 128	25
129 – 199	26
200 – 418	27
≥ 419	28

³ Per quanto riguarda la sorveglianza in allevamenti avicoli rurali o all'aperto, si intende il numero di capi presenti in azienda, mentre per quanto riguarda i controlli su equidi nei 4 km attorno ad allevamenti avicoli rurali e all'aperto o a gruppi di polli sentinella risultati positivi si intende la popolazione di equidi presenti nei 4 km.

Tabella 4. Numero di equidi da campionare per ELISA-IgM per provincia.

Regione/Provincia	Cavalli (IgM)
Valle d'Aosta/Vallée d'Aoste	74
Valle d'Aosta/Vallée d'Aoste	74
Lombardia	146
Varese	27
Como	29
Sondrio	72
Lecco	18
Monza e della Brianza	9
Trentino-Alto Adige/Südtirol	307
Bolzano/Bozen	167
Trento	140
Veneto	144
Vicenza	61
Belluno	83
Liguria	122
Imperia	26
Savona	35
Genova	41
La Spezia	20
Toscana	518
Massa-Carrara	26
Lucca	40
Pistoia	22
Firenze	79
Livorno	27
Pisa	55
Arezzo	73
Siena	86
Grosseto	102
Prato	8
Umbria	191

Perugia	143
Terni	48
Marche	212
Pesaro e Urbino	58
Ancona	44
Macerata	63
Ascoli Piceno	28
Fermo	19
Lazio	388
Viterbo	81
Rieti	62
Roma	121
Latina	51
Frosinone	73
Abruzzo	245
L'Aquila	114
Teramo	44
Pescara	28
Chieti	59
Molise	101
Campobasso	66
Isernia	35
Campania	309
Caserta	60
Benevento	47
Napoli	27
Avellino	63
Salerno	112
Puglia	441
Foggia	158
Bari	87
Taranto	56
Brindisi	42
Lecce	63
Barletta-Andria-Trani	35
Basilicata	227

Potenza	149
Matera	78
Calabria	342
Cosenza	151
Catanzaro	54
Reggio di Calabria	72
Crotone	39
Vibo Valentia	26

Tabella 5. Numero di sentinelle bovine ed ovi-caprine da campionare in c-ELISA per provincia.

Regione/Provincia	Sentinelle BT
Valle d'Aosta/Vallée d'Aoste	37
Valle d'Aosta/Vallée d'Aoste	37
Lombardia	73
Varese	14
Como	14
Sondrio	36
Lecco	9
Trentino-Alto Adige/Südtirol	153
Bolzano/Bozen	83
Trento	70
Veneto	72
Vicenza	31
Belluno	41
Liguria	61
Imperia	13
Savona	17
Genova	21
La Spezia	10
Toscana	260
Massa-Carrara	13
Lucca	20
Pistoia	11
Firenze	40
Livorno	14
Pisa	28
Arezzo	36
Siena	43
Grosseto	51
Prato	4
Umbria	95
Perugia	71

Terni	24
Marche	106
Pesaro e Urbino	29
Ancona	22
Macerata	31
Ascoli Piceno	14
Fermo	10
Lazio	194
Viterbo	41
Rieti	31
Roma	60
Latina	25
Frosinone	37
Abruzzo	122
L'Aquila	57
Teramo	22
Pescara	14
Chieti	29
Molise	50
Campobasso	33
Isernia	17
Campania	154
Caserta	30
Benevento	23
Napoli	13
Avellino	32
Salerno	56
Puglia	221
Foggia	79
Bari	44
Taranto	28
Brindisi	21
Lecce	32
Barletta-Andria-Trani	17
Basilicata	113
Potenza	74

Matera	39
Calabria	172
Cosenza	76
Catanzaro	27
Reggio di Calabria	36
Crotone	20
Vibo Valentia	13

Tabella 6. Schema riassuntivo delle attività di monitoraggio entomologico e controllo di *Culex pipiens* da effettuarsi nel caso di infezioni umane da virus West Nile.

Periodo dell'anno	Area di tipo A	Area di tipo B	Area di tipo C
	Area in cui è presente il vettore, in assenza di casi di WN	Area in cui si verifica un singolo caso umano di WN	Area dove sono segnalati focolai epidemici di WN
da dicembre a marzo	Nessuna attività	Nessuna attività	
da aprile a maggio e novembre		In presenza di casi umani e a seconda dell'andamento climatico stagionale vanno comunque attivate le attività riportate di seguito per le aree di tipo B e C:	
Da giugno a ottobre	<ul style="list-style-type: none"> • Il monitoraggio ed i trattamenti possono attenersi ai protocolli, ove già esistenti, seguendo la normativa regionale o nazionale • Vanno comunque condotte regolarmente le attività di prevenzione mediante educazione sanitaria, per la riduzione dei focolai larvali, interventi ordinari di controllo con prodotti larvicidi, nei focolai non rimovibili riservando l'uso di adulticidi a situazioni di elevata densità del vettore. 	<ul style="list-style-type: none"> • Intervento sul suolo privato e pubblico, all'interno di un'area compresa entro 200 metri di raggio intorno all'abitazione del caso • Ricerca e rimozione di focolai larvali domestici e peri-domestici • Trattamenti adulticidi (1° ciclo). - Spaziale, con prodotti abbattenti • Trattamento dei focolai larvali non rimovibili con prodotti larvicidi • Attivazione o potenziamento del monitoraggio nelle immediate vicinanze dell'abitazione del caso, per almeno due settimane dalla segnalazione • Informazione agli abitanti sulle misure da adottare per prevenire il contatto col vettore • Follow-up dell'area limitato alle due settimane seguenti l'allerta 	<ul style="list-style-type: none"> • Interventi sul suolo privato e pubblico, all'interno dell'area interessata dal focolaio e per un raggio di 200 metri oltre le abitazioni più esterne dell'area stessa • Ricerca e rimozione di focolai larvali domestici e peri-domestici • Trattamenti adulticidi (1° ciclo): - Spaziale, con prodotti abbattenti - Murale esterno con prodotti ad azione residua di ambienti abitati semicoperti* e interno in locali di servizio accessibili alle zanzare** • Trattamento dei focolai larvali non rimovibili con prodotti larvicidi • Informazione agli abitanti sulle misure da adottare per prevenire il contatto col vettore • Replica del solo intervento larvicida in caso di pioggia o di quello abbattente qualora il monitoraggio indicasse una scarsa efficacia del primo ciclo • Attivazione o potenziamento del monitoraggio nell'area interessata dal focolaio, per tutta la durata della stagione • Ripetere il trattamento spaziale dopo la prima (2°) e la seconda settimana (3°), poi seguendo le indicazioni del monitoraggio • Follow-up previsto per tutta la stagione a rischio

* Verande, terrazzi, porticati, ecc.; ** Sottoscala, androni, cantine, box, magazzini, depositi attrezzi, fienili ecc.

I particolari sulla pianificazione, la conduzione e la valutazione di queste attività di sorveglianza e controllo sono riportati in Allegato 4 Ulteriori informazioni sulle caratteristiche di *Cx. pipiens*, sui principi attivi insetticidi e i mezzi d'impiego sono reperibili nel sito www.iss.it/arbo. Per una eventuale consulenza entomologica su diagnostica, monitoraggio e controllo delle zanzare, è possibile contattare il Reparto di Malattie Trasmesse da Vettori e Sanità Internazionale - Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità (e-mail ento.mipi@iss.it).