

WEST NILE DISEASE IN ITALIA NEL 2008

Il virus della West Nile (WNV) è un *Flavivirus* appartenente alla famiglia *Flaviviridae* trasmesso da vettori. Il WNV infetta principalmente gli uccelli ma occasionalmente può infettare diverse specie di mammiferi, tra cui equidi e uomini, determinando forme asintomatiche e forme di meningo-encefalite [1].

In seguito al focolaio verificatosi in Toscana nel 1998 [4,5], il Ministero della Salute dal 2002 ha attivato il Piano Nazionale di Sorveglianza per la West Nile Disease con l'obiettivo di monitorare l'introduzione e la circolazione del WNV. Il D.M. del 29 novembre 2007 (G.U. n.36 del 12 febbraio 2008) dispone l'esecuzione sul territorio nazionale del Piano di Sorveglianza per la West Nile Disease (WND), secondo le modalità operative indicate nel Protocollo Operativo allegato al decreto stesso.

Sul territorio nazionale sono state individuate 15 aree a rischio di introduzione (Figura 1) nelle quali è stata effettuata attività di sorveglianza.

In particolare, il decreto prevede l'istituzione di un sistema di allerta rapido, da realizzarsi mediante:

- ◆ l'utilizzo di una rete di polli sentinella;
- ◆ la sorveglianza sulle cause di mortalità degli uccelli selvatici;
- ◆ l'uso di un sistema informativo telematico;

- ◆ l'utilizzo di un sistema di sorveglianza entomologica;

Inoltre, è prevista la valutazione del sistema di sorveglianza attraverso il monitoraggio di cavalli sentinella e il controllo dei casi, anche sub-clinici, di WND [7].

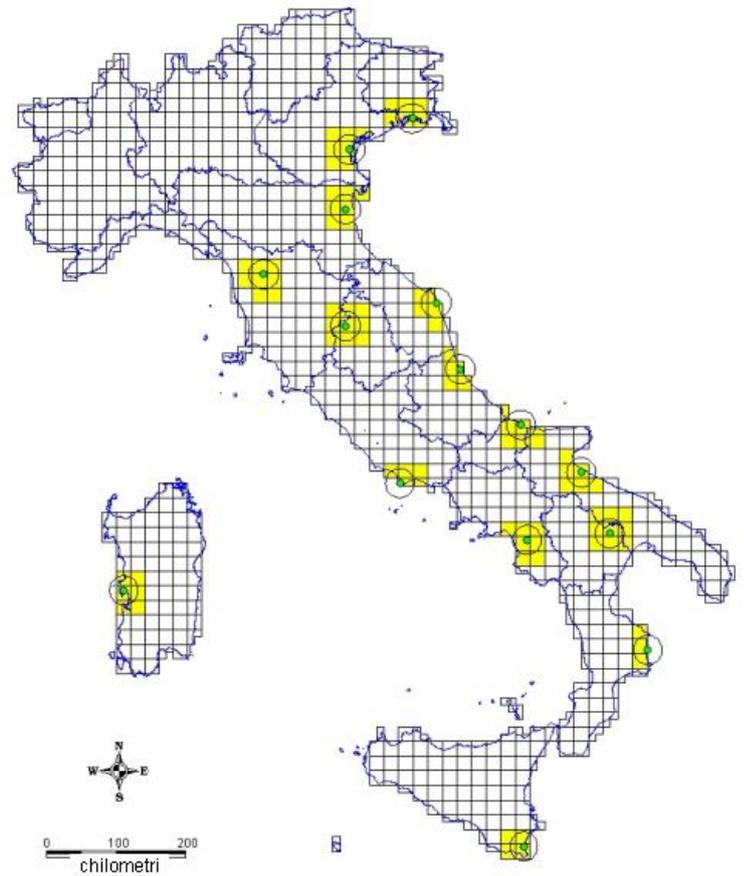


Figura 1. Aree a rischio indicate dal Decreto Ministeriale 29 novembre 2007





WEST NILE DISEASE IN ITALIA NEL 2008

Focolaio 2008

Situazione epidemiologica

I primi segni clinici ascrivibili alla WND sono stati osservati il 20 agosto 2008 in un cavallo da corsa di 2 anni. La stalla era situata in provincia di Ferrara, sul delta del Po a meno di 50 Km di distanza dalla zona umida di Comacchio (area considerata a rischio e segnalata nel Piano Nazionale di Sorveglianza).

Il sospetto è stato emesso il giorno 8 settembre 2008.

L'infezione da WNV è stata confermata sierologicamente e tramite isolamento virale e RT-PCR (12/09/2008). Le indagini, effettuate rapidamente dopo il primo caso di WND, hanno consentito di evidenziare, nei distretti circostanti, la presenza di altri casi sospetti di WND. Inoltre è stato attuato un programma di emergenza veterinaria. Oltre alle azioni di sorveglianza veterinaria sono state incrementate anche le attività di sorveglianza passiva nei settori della salute pubblica ed è stata attivata la sorveglianza attiva sul personale addetto alle scuderie. Queste attività hanno permesso di individuare 9 casi di infezione da WNV distribuiti nelle province di Bologna, Ferrara e Rovigo, 4 dei quali caratterizzati da patologia neuroinvasiva [3,8].

Piano di emergenza

Con l'Ordinanza del 5 novembre 2008 è stato definito il Piano di Sorveglianza Straordinaria che è andato ad integrare le attività già

previste dal D.M. del 29 novembre 2007. È stato applicato alle seguenti Regioni (Figura 2):

Emilia Romagna

parte della provincia di Bologna situata a nord della via Emilia, provincia di Ferrara, parte della provincia di Modena situata a nord della via Emilia, parte della provincia di Ravenna situata a nord della via Emilia

Veneto

provincia di Rovigo

Lombardia

provincia di Mantova

Le attività svolte sono state:

- ◆ sorveglianza sindromica (sintomatologia neurologica) su tutti gli equidi. È stato considerato come caso sospetto qualsiasi caso di atassia locomotoria o morte improvvisa di equidi situati in zona a rischio, nel periodo di attività dei vettori, nonché qualsiasi equide che, nel periodo di attività dei vettori, abbia mostrato almeno due dei seguenti sintomi: movimenti in circolo, incapacità a mantenere la stazione quadrupedale, paresi/paralisi agli arti, fascicolazioni muscolari, deficit propiocettivi, eventualmente accompagnati da cecità, ptosi del labbro inferiore, o paresi dei muscoli labiali o facciali, digrignamento dei denti. In assenza di segni clinici, anche un risultato sierologico positivo è stato considerato



WEST NILE DISEASE IN ITALIA NEL 2008

- come sospetto di encefalomyelite di tipo West Nile. La conferma è stata fornita da esami sierologici e virologici;
- ◆ controllo sierologico su tutti i polli e i cavalli sentinella della zona, selezionati nel quadro del Programma nazionale di sorveglianza WND;
 - ◆ controllo sierologico di cavalli selezionati tra quelli rimasti nella zona geografica oggetto di studio;
 - ◆ screening sierologico dei bovini sentinella, selezionati nell'ambito del Piano di sorveglianza italiano della bluetongue [2];
 - ◆ monitoraggio degli uccelli selvatici trovati morti o catturati nell'ambito di altri programmi di sorveglianza o in applicazione alle campagne per la riduzione della popolazione di uccelli nocivi;
 - ◆ sorveglianza entomologica nelle scuderie in cui sono stati diagnosticati animali infetti, con l'obiettivo di individuare i principali vettori di trasmissione del virus. [6]



Figura 2. Area oggetto della sorveglianza straordinaria per West Nile Disease





WEST NILE DISEASE IN ITALIA NEL 2008

Sorveglianza clinica e sierologica nei cavalli

Per “focolaio” si intende un’azienda in cui sono stati trovati casi confermati di WND.

Nel 2008 i focolai confermati sono stati 273, distribuiti in 8 province (Figura 3). Trentadue equidi in 18 focolai hanno manifestato sintomatologia clinica.

In Figura 4 è possibile osservare l’andamento temporale dei focolai di West Nile nei cavalli. La maggior parte dei focolai clinici di malattia sono stati rilevati nel mese di settembre (dalla 37^a alla 39^a settimana). Occorre precisare che la distribuzione temporale dei focolai rilevati mediante controlli diagnostici rispecchia la cronologia dei controlli e non la data di insorgenza del focolaio. Lo screening sierologico dei cavalli sentinella nelle province di Ferrara e Ravenna ha permesso di identificare

la sieroconversione di 9 equidi in 4 aziende (3 in provincia di Ferrara, 1 in provincia di Ravenna).

La Tabella 1 illustra le positività sierologiche e i casi confermati di equidi con sintomatologia nervosa che sono stati rilevati nell’area sottoposta a sorveglianza. Inoltre evidenzia il tasso di letalità registrato in ogni regione coinvolta dal focolaio.

Controllo sierologico sui bovini sentinella BT

In 16 aziende sono stati rilevati bovini sierologicamente positivi alla sieroneutralizzazione (Figura 5). La Tabella 2 illustra i risultati ottenuti in seguito agli accertamenti sierologici effettuati nell’area di sorveglianza su bovini sentinella.

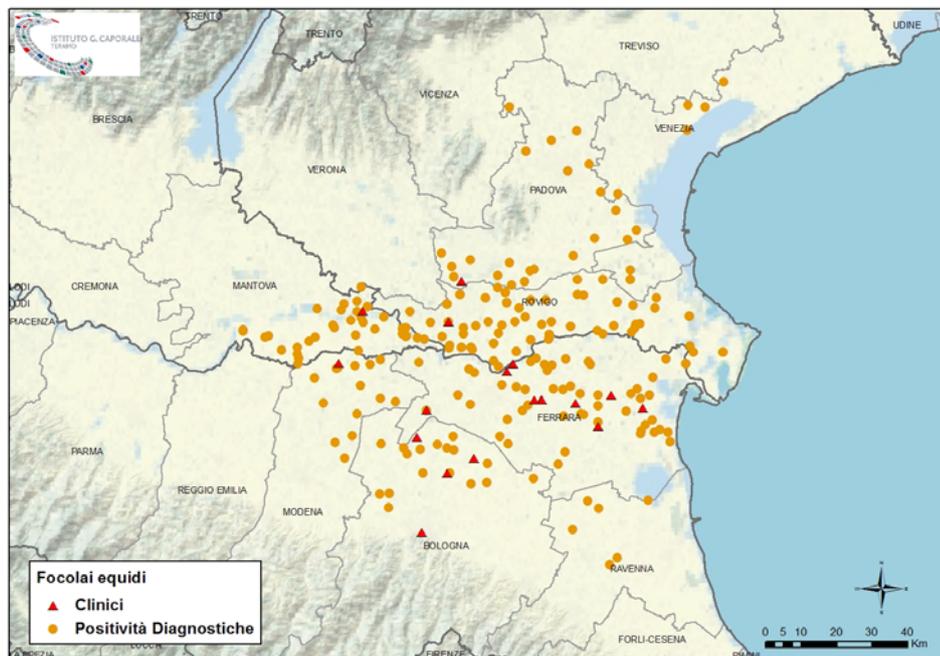


Figura 3. Distribuzione geografica dei focolai di WND negli equidi





WEST NILE DISEASE IN ITALIA NEL 2008

Sorveglianza sulla fauna ornitica

I campioni provenienti da 490 uccelli catturati in Emilia Romagna e in Lombardia sono stati testati mediante RT-PCR. Le specie più frequentemente testate, provenienti dalle province di Ferrara, Ravenna e Bologna, erano rappresentate da: gazza (*Pica pica*), cornacchia (*Corvus corone*), piccione selvatico (*Columba livia*). In queste tre specie sono stati riscontrati significativi livelli di positività alla RT-PCR e il più alto numero di positivi è stato registrato nella provincia di Ferrara (Figura 6).

Sorveglianza entomologica

Tra agosto ed ottobre 2008 sono state effettuate catture entomologiche soprattutto nelle scuderie dove sono stati trovati cavalli infetti con WNV. Le specie più frequentemente riscontrate sono state *Ochlerotatus caspius* e *Culex pipiens*. Gli esemplari catturati (utilizzando CO₂-baited CDC miniature light-traps e CDC gravid traps) sono stati sottoposti a PCR per la ricerca del virus. Sono risultate positive (RT-PCR) le catture entomologiche effettuate in 5 siti di cattura distribuiti nelle province di Bologna (un sito di cattura), Ferrara (3 siti di cattura), Brescia (1 sito di cattura); le positività riscontrate a Bologna e in 2 dei 3 siti di cattura di Ferrara sono state rilevate nelle aziende in cui sono stati individuati casi confermati di WND negli equidi .

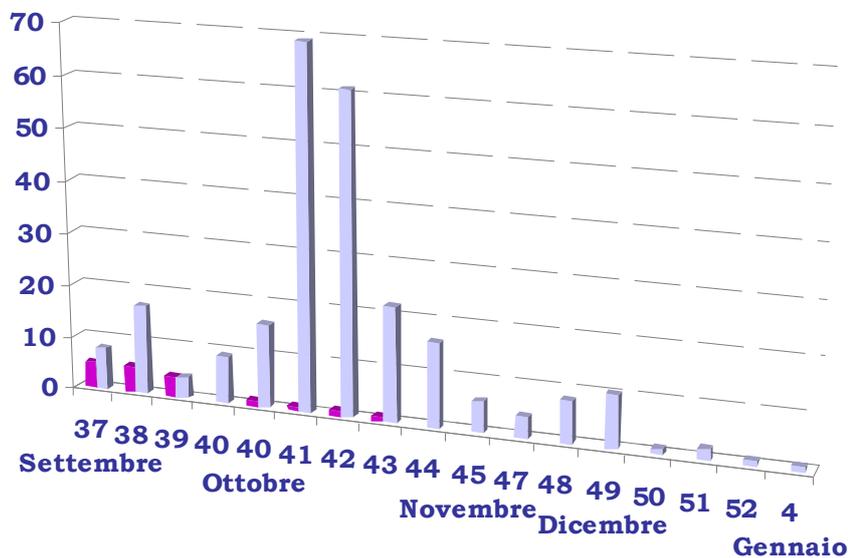
Analisi filogenetica degli isolati

Ceppi di WNV isolati da campioni di sangue provenienti da un cavallo in provincia di Rovigo, da un asino in provincia di Ferrara e da pool di tessuti di un piccione (*Columba livia*) e tre gazze (*Pica pica*) catturati in uno stesso territorio sono stati sottoposti ad analisi filogenetica effettuata su una sequenza nucleotidica di 255 bp nella regione codificante per la proteina E.

Ciò ha consentito di stabilire l'appartenenza del ceppo isolato al Lineaggio I. Inoltre è stata dimostrata la completa somiglianza (100%) della sequenza aminoacidica e il 98.8% di somiglianza nella sequenza nucleotidica del ceppo isolato nel 2008 con il ceppo isolato nel 1998 in Italia. L'analisi ha anche evidenziato l'appartenenza di questi isolati allo stesso sub-cluster (Figura 7), chiamato Mediterraneo/Kenya cluster, degli isolati in Romania (1996-1997), Russia (1999), Senegal (1993) e Kenya. Tali ceppi differiscono da quelli Israele/Americani che vengono classificati in un altro sub-cluster [9].



WEST NILE DISEASE IN ITALIA NEL 2008



■ Focolai con sintomatologia clinica ■ Focolai rilevati con esami diagnostici

Figura 4.. Andamento temporale dei focolai di West Nile nei cavalli

Regioni	Province	Equidi nei focolai								Prevalenza casi totali	Prevalenza casi clinici	Letalità
		N. Focolai	N. Focolai con sintomi clinici	Presenti	Casi totali	Con segni clinici	Morti/abbattuti					
Emilia Romagna	Bologna	21	4	356	48	6	1	13,48%	1,69%	2,08%		
	Ferrara	63	10	629	127	16	2	20,19%	2,54%	12,50%		
	Modena	15	1	227	23	1	0	10,13%	0,44%	0,00%		
	Ravenna	5	0	54	5	0	0	9,26%	0,00%	0,00%		
Lombardia	Mantova	36	1	156	85	7	2	54,49%	4,49%	2,35%		
	Padova	25	1	103	41	1	0	39,81%	0,97%	0,00%		
Veneto	Rovigo	99	1	357	213	1	0	59,66%	0,28%	0,00%		
	Venezia	9	0	59	21	0	0	35,59%	0,00%	0,00%		
	Totale	273	18	1941	563	32	5	29,01%	1,65%	0,89%		

Tabella 1. Numero di focolai sierologicamente positivi e casi confermati di equidi con sintomatologia neurologica nell'area sottoposta a sorveglianza



WEST NILE DISEASE IN ITALIA NEL 2008

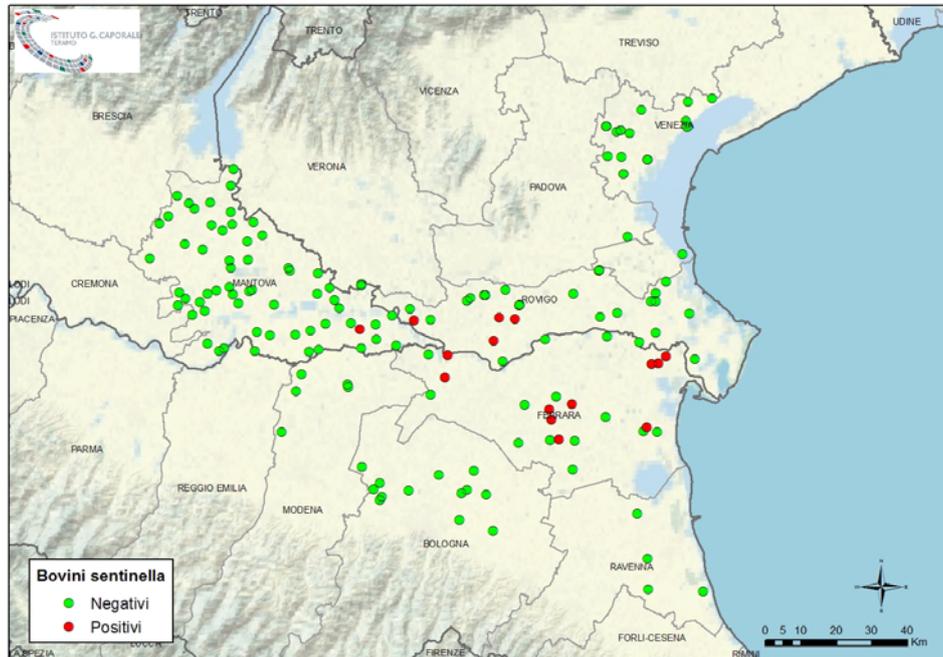


Figura 5. Distribuzione geografica delle sentinelle bovine esaminate per WND

Regione	Provincia	Allevamenti sentinella			Bovini sentinella		
		Testati	Positivi	% (95% I.c.)	Testati	Positivi	% (95% I.c.)
Emilia Romagna	Bologna	13	0	0% (0.0% - 23.2%)	185	0	0% (0.0% - 2%)
	Ferrara	23	10	43.5% (25.55% - 63.4%)	400	24	6% (4.07% - 8.8%)
	Modena	3	0	0% (0.0% - 60.2%)	36	0	0% (0.0% - 9.5%)
	Ravenna	4	0	0% (0.0% - 52.2%)	56	0	0% (0.0% - 6.3%)
Veneto	Padova	1	1	100% (15.81% - 98.7%)	7	1	14.3% (3.19% - 52.7%)
	Rovigo	27	4	14.8% (6.06% - 32.7%)	197	6	3% (1.43% - 6.5%)
	Venezia	22	0	0% (0.0% - 14.8%)	166	0	0% (0.0% - 2.2%)
Lombardia	Mantova	59	1	1.7% (0.41% - 8.9%)	354	1	0.3% (0.07% - 1.6%)
Totale		152	16	10.5% (6.61% - 16.4%)	1401	32	2.3% (1.63% - 3.2%)

Tabella 2. Risultati del test di sieroneutralizzazione su bovini sentinella nell'area di sorveglianza



WEST NILE DISEASE IN ITALIA NEL 2008

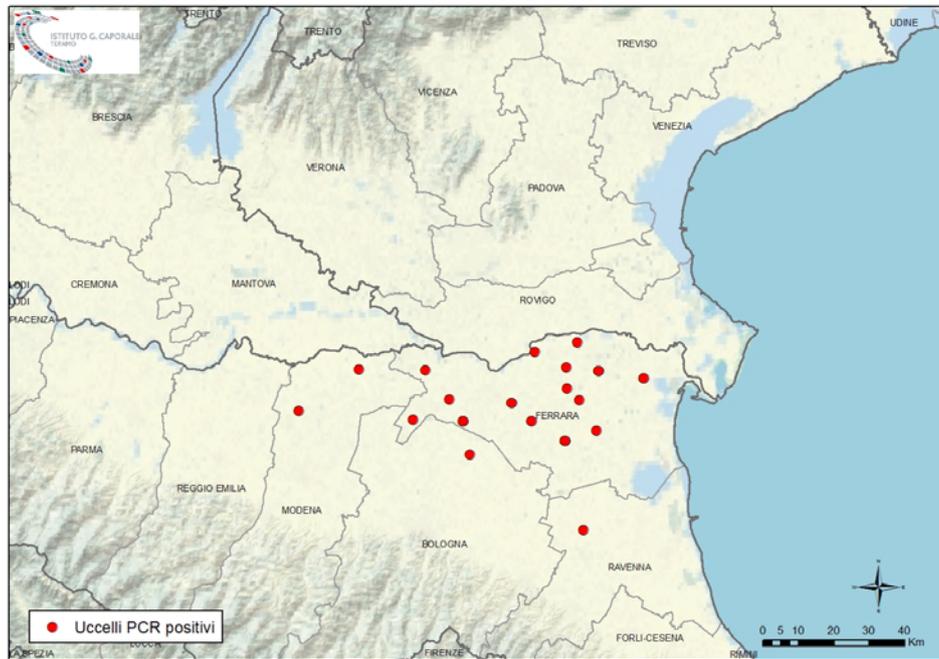


Figura 6. Distribuzione geografica degli uccelli PCR-positivi

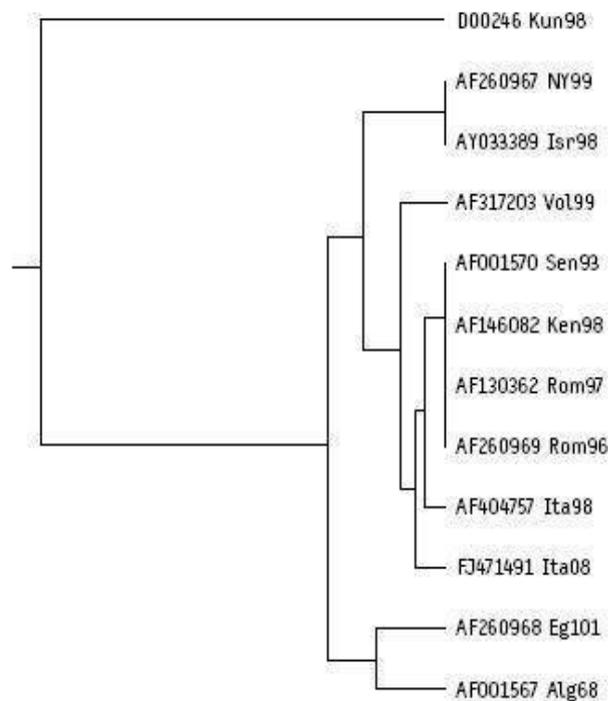


Figura 7. Analisi filogenetica del WNV sulla base della sequenza nucleotidica (255 bp) parziale del gene E; isolati da campioni animali, Italia, 2008





WEST NILE DISEASE IN ITALIA NEL 2008

Bibliografia

1. Douphin G, Zientara S, Zeller H, Murgue B. West Nile: worldwide current situation in animals and humans. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 2004; 27(5): 343-355.
2. Giovannini A, Paladini C, Calistri P, Conte A, Colangeli P, Santucci U, et al. Surveillance system of bluetongue in Italy. *Vet Ital*, 2004; 40(3):369 - 84. Disponibile su http://www.izs.it/vet_italiana/2004/03/72.pdf
3. Gobbi F, Napoletano G, Piovesan C, Russo F, Angheben A, Rossanese A, Cattelan AM, Gallo L, Valsecchi M, Piazza A, Venturi G, Bisoffi Z. Where is West Nile fever? Lessons learnt from recent human cases in northern Italy. *Euro Surveill*, 2009; 14(10). Disponibile su <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19143>.
4. Lelli R. Encefalite West Nile: Diagnostica di laboratorio sugli animali. *Quaderni di Igiene pubblica e veterinaria* 14, 2002; Regione Toscana – Dipartimento del Diritto alla salute e delle politiche di solidarietà.
5. Lelli R, Mazzei M, Ambrogi C, Cantile C, Tolari F, Arispici M. Encefalite West Nile: indagini sierologiche su animali in un'area della Toscana dopo l'epidemia del 1998. *Atti Convegno*, 2004; SIDILV.
6. Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali. 2008. Ordinanza del 5 novembre 2008. West Nile Disease – Notifica alla Commissione europea e all'OIE – Piano di sorveglianza straordinario. *Gazz Uff*, **227**, 26/11/2008.
7. Ministero della Salute 2007. Decreto Ministeriale del 29 novembre 2007: approvazione del Piano di sorveglianza nazionale per la encefalomyelite del tipo West Nile (West Nile Disease). *Gazz Uff*, **36**, 12/02/2008.
8. Rossini G, Cavrini F, Pierro A, Macini P, Finarelli A, Po C, et al. First human case of West Nile virus neuroinvasive infection in Italy, September 2008 - case report. *Euro Surveill*, 2008; 13(41). Disponibile su <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19002>.
9. Savini G, Monaco F, Calistri P, Lelli R. Phylogenetic analysis of West Nile virus isolated in Italy in 2008. *Euro Surveill*, 2008; 13(48). Disponibile su <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19048>.





WEST NILE DISEASE IN ITALIA NEL 2008

Informazioni sulla malattia, la legislazione in vigore ed altre notizie utili sono disponibili al sito:

http://sorveglianza.izs.it/emergenze/west_nile/emergenze.htm

CONTATTI

Centro Studi Malattie Esotiche (CESME)

Centro Nazionale di Referenza per lo studio e l'accertamento delle malattie esotiche degli animali riconosciuto con Decreto Ministeriale del 2 Maggio 1991.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale",
Campo Boario, 64100 Teramo.

Responsabile: Dott.ssa Rossella Lelli

r.elli@izs.it

Tel: 0861 332230

Fax: 0861 332251

