Ministero della Salute

DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE SANITARIA
Ufficio 5 – Prevenzione delle malattie trasmissibili e profilassi internazionale

DIREZIONE GENERALE DELLA SANITÀ ANIMALE E DEI FARMACI VETERINARI
Ufficio 3 – 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

FEDERAZIONE NAZIONALE ORDINE DEI MEDICI
CHIRURGHI E DEGLI ODONTOIATRI
ROMA

ASSOCIAZIONE NAZIONALE COMUNI ITALIANI
ROMA

OGGETTO: Piano nazionale integrato di prevenzione, sorveglianza e risposta ai virus West Nile e Usutu - 2019

Si trasmette in allegato il "Piano nazionale di prevenzione, sorveglianza e risposta ai virus West Nile e Usutu– 2019".

Il piano, elaborato con l'ausilio del Tavolo tecnico intersettoriale sulle malattie trasmesse da vettori, introduce importanti aggiornamenti relativi alle attività di prevenzione, alla classificazione delle aree a rischio sulla base delle evidenze epidemiologiche, ecologiche ed ambientali, e alle misure di

controllo. È stato inoltre inserito un nuovo allegato relativo alle procedure operative per la cattura di zanzare e la gestione del campione.

Tenuto conto dell'ingente circolazione virale verificatasi nel 2018, si richiamano le autorità competenti ad attivarsi il più precocemente possibile per effettuare tutti gli interventi preventivi indicati nel Piano, con particolare riferimento all'allegato 4 (trattamenti larvicidi ed adulticidi) e alle misure di corretta gestione del territorio e risanamento ambientale.

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

IL DIRETTORE GENERALE DGPRE
*F.to Dott. Claudio D'Amario

IL DIRETTORE GENERALE DGSAF
*F.to Dott. Silvio Borrello

Il Direttore dell'Ufficio 5
*F.to Dott. Francesco Maraglino

Il Direttore dell'Ufficio 3
*F.to Dott. Luigi Ruocco

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

Referente/Responsabile del procedimento:
Bessi Olivia – 06 59943563
email: o.bessi@sanita.it

"firma autografa sostituita a mezzo stampa, ai sensi dell'art. 3, comma 2, del D. Lgs. n. 39/1993"

Piano nazionale integrato di prevenzione, sorveglianza e risposta ai virus West Nile e Usutu - 2019

1 Introduzione

Il virus West Nile (WNV) è stato segnalato in Europa a partire dal 1958 ed è il virus appartenente al genere *Flavivirus* più diffuso al mondo. Le persone e gli equidi sono ospiti a fondo cieco e l'infezione da WNV decorre in maniera asintomatica nella maggior parte dei casi. Tuttavia nelle categorie a rischio (età avanzata e/o soggetti immunocompromessi) l'infezione può manifestarsi con sintomi neurologici talvolta letali.

Meno noto del WNV, il virus Usutu (USUV), anch'esso appartenente al genere *Flavivirus*, è stato invece osservato per la prima volta in Europa nel 1996. La sua comparsa ha determinato mortalità significativa tra le popolazioni di merli e altre specie aviarie in Italia e, successivamente, in altri paesi europei. Entrambi i virus possono passare dalle popolazioni aviarie ai mammiferi, esseri umani inclusi, attraverso i cosiddetti vettori-ponte, ovvero specie di zanzare che compiono il pasto sia sugli uccelli che sui mammiferi.

La glicoproteina E (dell'*envelope)* è la componente principale della superficie di USUV e WNV. Oltre ad essere decisiva per l'introduzione del virus nella cellula ospite, è il target principale della risposta immunitaria dell'ospite. Le glicoproteine E di USUV e WNV contengono determinanti antigenici comuni responsabili dei fenomeni di reattività crociata talvolta osservabili tra i due virus e, più in generale, tra le specie del genere *Flavivirus*.

Sebbene condividano cicli biologici simili, caratterizzati dalla trasmissione tra zanzare ornitofile (soprattutto *Culex* spp.) ed alcune specie di uccelli selvatici che possono fungere da serbatoio ed amplificatore dell'infezione virale, i due virus differiscono sostanzialmente per il loro impatto sulla sanità pubblica. Se il WNV è responsabile di casi umani con sintomi neurologici gravi, la capacità di indurre forme cliniche neuro-invasive da parte dell'USUV sembra essere, ad oggi, limitata a poche e sporadiche segnalazioni in Emilia-Romagna ed in Veneto, pur in presenza di livelli di siero-prevalenza umana non inferiori a quelli per WNV nella valle del Po.

1.1 Epidemiologia del WNV in Italia

Complessivamente, dal 2008, sono 14 le Regioni italiane (Emilia-Romagna, Veneto, Lombardia, Sardegna, Sicilia, Friuli-Venezia Giulia, Piemonte, Molise, Toscana, Basilicata, Lazio, Puglia, Calabria, Liguria) in cui è stata rilevata la circolazione del WNV. Dal 2008 al 2018 sono stati notificati 475 casi umani autoctoni di malattia neuro-invasiva da West Nile (WNND) e 7 casi importati. Nello stesso periodo sono stati segnalati 1.660 casi confermati di infezione negli equidi, di cui 251 con sintomatologia nervosa.

Nel 2018, in Italia ed in altri paesi dell'Europa centro-meridionale, è stato registrato un aumento della circolazione del WNV. In Italia, sono stati segnalati 595 casi umani confermati di infezione da WNV, di questi 238 si sono manifestati nella forma neuro-invasiva con 237 casi autoctoni distribuiti in 6 regioni (Veneto, Emilia-Romagna, Lombardia, Piemonte, Sardegna, Friuli-Venezia Giulia) ed 1 caso importato. Analogamente a quanto registrato nelle persone, nel corso del 2018, la sorveglianza veterinaria ha rilevato un aumento della circolazione

del WNV in zanzare, uccelli e cavalli in 9 regioni italiane (Emilia-Romagna, Veneto, Lombardia, Sardegna, Friuli-Venezia Giulia, Piemonte, Lazio, Basilicata e Puglia).

1.2 Epidemiologia del USUV in Italia

Dal 2017 è stata istituita una sorveglianza dei casi di infezione da USUV coordinata alla sorveglianza delle infezioni da WNV. Nel 2017, sono stati notificati 4 casi umani confermati di infezione da USUV, in donatori di sangue di cui solo 1 sintomatico, in 2 Regioni (Lombardia e Lazio).

Nel 2018, nonostante il riscontro di una elevata circolazione di USUV nelle zanzare e negli uccelli, sono stati notificati solo 9 casi di infezione umana da USUV (2 casi nella forma neuro-invasiva, 4 febbri e 3 casi in donatori asintomatici) in 4 regioni: Veneto, Emilia-Romagna, Friuli-Venezia Giulia, Lazio). In 4 di questi casi, di cui nessuno neuro-invasivo, è stata confermata una co-infezione USUV-WNV.

In considerazione della complessità del ciclo biologico del WNV e dell'USUV, la sorveglianza mirata a rilevare la circolazione virale rende indispensabile l'interazione tra diverse professionalità e l'integrazione dei sistemi di sorveglianza in diversi ambiti: entomologico, veterinario ed umano. Dal 2016, la sorveglianza veterinaria (animale ed entomologica) essenziale per la stima del rischio, e quella dei casi umani, sono integrate in un unico Piano.

Le informazioni sull'evoluzione della situazione epidemiologica per WNV/USUV 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;
http://www.epicentro.iss.it/problemi/westNile/bollettino.asp

2 Prevenzione

Considerando lo scenario epidemiologico sopra esposto, è importante favorire l'adozione di corrette abitudini di vita della popolazione, la capacità degli individui e della collettività di collaborare alla riduzione dei focolai di sviluppo larvale e la disponibilità e l'utilizzo dei mezzi di protezione individuale contro le punture delle zanzare. La comunicazione del rischio, la formazione, l'informazione e l'educazione alla salute rivestono quindi un ruolo determinante per ottenere la collaborazione della popolazione.
Nell'implementare attività di informazione, si raccomanda di mirarle in particolare ai soggetti a rischio più elevato di sviluppare la malattia neuro invasiva quali gli anziani e gli immunodepressi, valutando a livello locale le strategie di comunicazione più idonee per raggiungere queste categorie.
Gli interventi preventivi di contrasto ai vettori si devono fondare su un approccio integrato (*Integrated Mosquito Management*) che prevede la ricerca e rimozione dei focolai di sviluppo delle larve, la bonifica ambientale e l'impiego di prodotti larvicidi nei focolai che non possono essere rimossi o bonificati.
I focolai ambientali più comuni possono essere di vario tipo, ad esempio: acquitrini, canalizzazioni a cielo aperto, bacini perenni e per l'approvvigionamento idrico degli orti urbani, risaie, cisterne, depuratori, vasche e fontane

ornamentali soprattutto laddove le acque sono ferme e contengono detriti vegetali (che forniscono nutrimento e riparo alle forme larvali), tombini e pozzetti stradali che raccolgono le acque di superficie, grondaie con pendenze non corrette, cantine allagate, ed anche piccole raccolte di acqua temporanee, come ad esempio in barattoli vuoti, sottovasi e contenitori senza coperchio.
Le Autorità competenti, procederanno, in base alle condizioni del territorio, agli interventi di risanamento ambientale, che comprendono, fra l'altro: manutenzione delle aree verdi pubbliche; pulizia delle aree abbandonate; eliminazione dei rifiuti per evitare la presenza di contenitori, anche di piccole dimensioni, contenenti acqua; drenaggio; canalizzazione; asportazione o chiusura di recipienti. Tali attività saranno affiancate dalla sensibilizzazione della popolazione, anche con interventi porta a porta, per eliminare i siti di riproduzione delle zanzare nelle aree private, come descritto precedentemente.

3 Obiettivi generali della sorveglianza integrata WNV e USUV

Nel caso del WNV l'obiettivo generale della sorveglianza integrata consiste nell'individuare precocemente, attraverso programmi mirati, la sua circolazione sul territorio nazionale negli uccelli o negli insetti vettori al fine di mettere prontamente in atto tutte le misure disponibili per prevenire la trasmissione nei confronti delle persone (controllo del vettore; comunicazione del rischio e adozione di misure protezione individuale; misure nei confronti delle donazioni di sangue ed emocomponenti, organi e tessuti).

Le attività di sorveglianza previste per il WNV sono integrate con quelle utili all'individuazione della circolazione dell'USUV. Il rilievo della circolazione di USUV è, infatti, funzionale alla valutazione del rischio di infezione da USUV nelle persone e alla eventuale messa in atto delle misure per ridurre il rischio di trasmissione. Inoltre, in considerazione delle analogie esistenti tra i rispettivi cicli biologici, il rilievo di circolazione di USUV fornisce un'indicazione utile anche sul rischio di trasmissione del WNV nelle medesime aree geografiche.

3.1 Obiettivi specifici della sorveglianza integrata di WNV

1. Individuare il più precocemente possibile la circolazione virale sul territorio nazionale attraverso programmi di sorveglianza mirata, riguardanti 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. Attuare in maniera tempestiva, efficace e coordinata le misure preventive necessarie a ridurre il rischio di trasmissione dell'infezione alle persone, tramite un efficiente scambio delle informazioni tra tutti gli Enti interessati.
3. Prevenire il rischio di trasmissione della malattia alle persone sia attraverso le donazioni di sangue, emocomponenti, organi o tessuti sia attraverso la puntura delle zanzare durante il periodo di maggiore attività vettoriale.
4. Governare in maniera coordinata le eventuali emergenze epidemiche.

3.2 Obiettivi specifici della sorveglianza integrata di USUV

1. Individuare la possibile circolazione virale attraverso programmi di sorveglianza mirata, riguardanti gli uccelli appartenenti a specie bersaglio e gli insetti vettori.
2. Monitorare l'impatto dell'infezione da USUV nelle persone e garantire un efficiente scambio delle informazioni tra tutti gli Enti interessati, al fine di individuare eventuali condizioni di elevato rischio di infezione umana con manifestazioni cliniche e di attivare conseguenti misure di controllo.

4 Sorveglianza della circolazione di WNV e USUV: principi generali

Le procedure operative di intervento e i flussi informativi descritti per l'anno 2019 sono adottati nell'ambito del Piano nazionale integrato di prevenzione, sorveglianza e risposta ai virus WNV e USUV, per individuare il più precocemente possibile la loro circolazione, sia nelle aree dove l'infezione è già apparsa nel passato sia nelle restanti parti del territorio nazionale.

Il piano si avvale della:

1. sorveglianza su uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio. Nelle aree a basso rischio (BR), definite successivamente, è possibile, in alternativa attuare la sorveglianza su allevamenti avicoli rurali o all'aperto,
2. sorveglianza su esemplari di uccelli selvatici rinvenuti morti,
3. sorveglianza entomologica,
4. sorveglianza clinica negli equidi,
5. sorveglianza dei casi umani.

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

- di tutti i casi sospetti di sintomatologia nervosa negli equidi,
- di tutti gli episodi di mortalità in uccelli selvatici,
- di tutti i casi di malattia neuroinvasiva e/o di infezione recente nelle persone.

La sorveglianza dei casi umani importati e autoctoni, si attua **per tutto l'anno** su **tutto il territorio nazionale** (come descritto in dettaglio nel successivo paragrafo 5.1). Si raccomanda di porre attenzione alla diagnosi di infezioni da WNV e da USUV, in particolare nell'ambito della diagnosi differenziale delle encefaliti, meningiti a liquor limpido, poliradicolo-neuriti (simil Guillain-Barré), paralisi flaccide acute e durante il periodo di maggiore attività del vettore (dai primi di maggio a tutto novembre).

La sorveglianza clinica negli equidi si attua per tutto l'anno su tutto il territorio nazionale (come descritto in dettaglio nel successivo paragrafo 5.2).

Le modalità di attuazione delle sorveglianze di cui ai precedenti punti 1-3 differiscono invece a seconda della situazione epidemiologica locale. Le aree oggetto del piano sono individuate sulla base delle evidenze

epidemiologiche relative al WNV riferite ai 5 anni precedenti, nonché sulla base di informazioni epidemiologiche/ecologiche/ambientali. A tal fine sono individuate 3 tipologie di aree geografiche distinte.

A Aree ad alto rischio (AR) di trasmissione. Ai fini del presente piano per aree AR s'intende il territorio (Provincia) dove WNV sta circolando o ha circolato in almeno uno dei 5 anni precedenti la pubblicazione della presente circolare e dove, quindi, si sono ripetutamente osservati episodi di infezione, nonché le aree limitrofe o subito a ridosso delle stesse (Figura 1, Tabella 1). In queste aree è prevista:

a. la sorveglianza su uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio,
b. la sorveglianza entomologica,
c. la sorveglianza dei casi di sintomatologia nervosa negli equidi (solo WNV),
d. la sorveglianza su esemplari di uccelli selvatici rinvenuti morti,
e. la sorveglianza dei casi di malattia neuro-invasiva e/o di infezioni recenti umane.

Figura 1. Province classificate ad alto rischio di trasmissione (AR) (in rosso) per il virus West Nile

B Aree a basso rischio (BR) di trasmissione. Ai fini del presente piano per area BR s'intende il territorio (Provincia) dove i WNV ha circolato in modo sporadico in passato o non ha mai circolato, ma le cui caratteristiche eco-climatiche sono favorevoli per la circolazione virale (Figura 2, Tabella 2). In queste aree si deve attuare:

a. la sorveglianza su uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio o, in alternativa, su allevamenti avicoli rurali o all'aperto,
b. la sorveglianza entomologica
c. la sorveglianza dei casi di sintomatologia nervosa negli equidi (solo WNV)
d. la sorveglianza su esemplari di uccelli selvatici rinvenuti morti
e. la sorveglianza dei casi di malattia neuro-invasiva e/o di infezioni recenti umane.

Limitatamente ai casi in cui le attività di sorveglianza sulle specie aviarie 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 di volatili domestici, le Regioni/PP.AA. interessate possono definire misure o attività straordinarie preventivamente concordate con la Direzione Generale della sanità animale e dei farmaci veterinari (DGSAF) del Ministero della Salute e il CESME.

Figura 2. Province classificate a basso rischio di trasmissione (BR) (in azzurro) per il virus West Nile

C Aree a rischio minimo di trasmissione (RM).

Ai fini del presente piano per area RM s’intende il territorio (Provincia) dove WNV non risulta aver mai circolato e in cui, date le caratteristiche eco-climatiche del territorio, la probabilità di una sua circolazione è considerata minima (Tabella 3). In queste aree si deve attuare:

a. la sorveglianza dei casi di sintomatologia nervosa negli equidi (solo WNV),
b. la sorveglianza su esemplari di uccelli selvatici rinvenuti morti,
c. la sorveglianza dei casi di malattia neuro-invasiva e/o di infezioni recenti umane.

Qualora nelle aree RM fossero attivi piani per il controllo di popolazione di specie aviarie recettive ai virus, i capi abbattuti possono fornire indicazioni utili per meglio definire la situazione epidemiologica dell’area. Le indicazioni per la gestione delle carcasse sono riportate al paragrafo 5.3.

Le Regioni possono definire misure o attività straordinarie (da inviare preventivamente al Ministero, all’ISS e al CESME per una opportuna valutazione) e finalizzati ad integrare la sorveglianza di cui al presente Piano sulla base delle evidenze che si manifestano nel corso delle attività.

Le Regioni e PP.AA., informando il Ministero della Salute e CESME, possono decidere di ridurre e/o sospendere la sorveglianza entomologica nel momento in cui è accertata la circolazione virale in un'unità geografica di riferimento o in più province contigue di una stessa Regione.
Detta possibilità non è attuabile per le trappole entomologiche che risultano in prossimità di altre unità geografiche di riferimento (intra o extra regionali) ancora indenni da circolazione virale.

5 Sorveglianza su tutto il territorio nazionale (aree ad alto e basso rischio e aree a rischio minimo di trasmissione)

5.1 Sorveglianza dei casi di malattia neuro-invasiva e/o di infezioni recenti umane

Le attività di sorveglianza dei casi umani importati e autoctoni si attuano **per tutto l'anno su tutto il territorio nazionale**.

Dai primi di maggio a tutto novembre la sorveglianza dei casi umani deve essere rafforzata. Si raccomanda di porre attenzione alla diagnosi di infezioni da WNV e da USUV, in particolare nell'ambito della diagnosi differenziale delle encefaliti, meningiti a liquor limpido, poliradicolo-neuriti (simil Guillain-Barré), paralisi flaccide acute. Inoltre, le Regioni e PP.AA. che rilevino casi confermati o probabili in soggetti che non presentano forme neuro-invasive di malattia da WNV e USUV (ad esempio febbri e/o positività in donatori), dovranno trasmettere tali dati al Ministero della Salute ed all'ISS tramite il flusso descritto nel paragrafo 11.

Il periodo di sorveglianza potrebbe 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.

In Allegato 1 sono riportate le definizioni di caso per la malattia da virus West Nile e per la malattia da virus Usutu.

5.2 Sorveglianza clinica negli equidi (WND)

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 degli 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 (DGSAF) e al servizio veterinario della Regione, attraverso la registrazione del sospetto nel Sistema Informativo Nazionale Malattie Animali (SIMAN). Il servizio veterinario dell'ASL provvede ad effettuare i prelievi di sangue con e senza anticoagulante EDTA[1] sugli 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" devono essere 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 quanto prima (comunque entro e non oltre 2 giorni lavorativi). Il CESME deve effettuare 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, al Centro Nazionale Sangue (CNS) e al Centro Nazionale Trapianti (CNT).

Qualora il sospetto riguardi animali deceduti o soppressi in seguito a sindrome neurologica, il servizio veterinario dell'ASL competente per territorio, in collaborazione con l'IZS competente per territorio deve eseguire l'esame anatomo-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 (entro e non oltre 2 giorni lavorativi) in quantità idonea, perfettamente confezionati e conservati, accompagnati dalla scheda W03. Il CESME deve effettuare 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, al CNS e al CNT.

5.3 Sorveglianza su esemplari di uccelli selvatici rinvenuti morti

La sorveglianza passiva sull'avifauna selvatica si esegue su **tutto il territorio nazionale** durante tutto l'anno e deve essere intensificata durante il periodo di attività degli insetti vettori. Ogni animale trovato morto, anche nell'ambito di altri Piani, ed appartenente agli ordini dei Passeriformi, Ciconiformi, Caradriformi, Falconiformi e Strigiformi deve essere recuperato ed inviato all'IZS competente per territorio per l'esame anatomo-patologico. Per rilevare la presenza di WNV e/o USUV cuore, cervello, rene e milza devono essere esaminati presso i laboratori dell'IZS competente per territorio tramite i test RT-PCR. I campioni positivi (parti di organo, omogenato, RNA) devono essere inviati quanto prima (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. Si dovrà procedere in maniera analoga ogni qualvolta siano segnalati episodi di mortalità anomala o aumento dell'incidenza della mortalità nell'avifauna. Il CESME deve effettuare gli esami di conferma entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il

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

rapporto di prova all'IZS, alla Regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute e al CNS e CNT.

6 Ulteriore sorveglianza nelle aree ad alto rischio di trasmissione (AR)

Oltre alle attività di sorveglianza descritte al paragrafo 5, per le aree ad alto rischio di trasmissione devono essere attivate le seguenti sorveglianze. Per poter meglio uniformare tali attività nell'ambito delle aree AR si considera come unità geografica di riferimento il territorio della Provincia.

6.1 Sorveglianza su uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio

Il territorio di ogni provincia è suddiviso in zone di 1200-1600 Km^2 al fine di uniformare il numero di prelievi effettuati per unità di superficie (Tabella 1). In presenza di particolari condizioni geografiche ed orografiche, i Piani Regionali possono rimodulare il numero di unità geografiche programmato e riportato in Tabella 1.

Per specie bersaglio si intende quel gruppo di specie recettive al virus sottoposte a controlli di popolazione[2] 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 deve essere eseguito ogni due settimane, secondo un calendario predefinito. Per ciascuna unità geografica di riferimento devono essere campionati almeno 100 esemplari di specie avendo cura di eseguire le attività di campionamento fino a novembre tenendo in considerazione il periodo durante il quale è possibile effettuare il depopolamento. Il campionamento deve iniziare il prima possibile, compatibilmente con la raccolta delle necessarie autorizzazioni.

Per rilevare la presenza di WNV e/o USUV, cuore, cervello, rene e milza di ogni animale devono essere esaminati presso i laboratori dell'IZS competente per territorio[3] - mediante i test di RT-PCR. I campioni positivi (parti di organo, omogenati, RNA) devono essere inviati quanto prima (comunque entro e non oltre 2 giorni lavorativi) al CESME per la conferma. Per ogni specie prelevata deve essere compilata la scheda W02 di accompagnamento. Il CESME deve effettuare gli esami di conferma entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all'IZS competente per territorio, alla Regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute, al CNS e CNT.

Nel caso non fosse possibile effettuare il campionamento delle specie bersaglio il servizio veterinario della Regione interessata deve preparare una proposta alternativa da sottoporre alla preventiva approvazione della DGSAF del Ministero della Salute, sentito il parere del CESME. In ogni caso, al fine di ottemperare ai necessari obiettivi di tempestività e precocità del rilievo della circolazione virale sul territorio, l'eventuale proposta

[2] Legge 11 febbraio 1992, n. 157. Norme per la protezione della fauna selvatica omeoterma e per il prelievo venatorio

[3] L'elenco dei laboratori competenti per territorio afferenti alla rete degli IIZZSS è riportato nell'allegato 3

alternativa deve basarsi su misure di sorveglianza incentrate su uccelli, potenziali ospiti dell'infezione, e/o su un adeguato potenziamento della sorveglianza entomologica.

6.2 Sorveglianza entomologica

La rete degli IIZZSS presenti sul territorio nazionale fornisce alle Regioni il contributo tecnico-scientifico per le attività di sorveglianza entomologica. Nelle aree AR la sorveglianza entomologica va effettuata in ciascuna unità geografica di riferimento suddividendo il territorio in aree regolari, tenendo conto dei limiti altitudinali nelle varie fasce latitudinali e comunque non al di sopra dei 600 metri s.l.m. Tenendo presente che, minore è la dimensione dell'area sorvegliata da una singola trappola, maggiore è la capacità del sistema di rilevare circolazione virale, le Regioni hanno facoltà di scegliere, in base a una specifica valutazione organizzativa, la dimensione dell'area che comunque non deve superare i 20 km di lato o i 400 Km^2.

In ogni area individuata deve essere posizionata almeno una trappola tipo CDC con esca a CO_2 o Gravid. Nel caso in cui le trappole siano posizionate in prossimità dei confini regionali (buffer di 5 Km), la localizzazione delle trappole (e relativi esiti delle catture/riscontro di virus) deve essere comunicata dal Responsabile regionale di Sanità pubblica o suo delegato alle Regioni competenti. Le catture devono essere effettuate con cadenza quindicinale nel periodo da aprile fino a novembre. Le Regioni e PP.AA. possono, comunque, adattare tale periodo in base allo specifico andamento climatico e meteorologico locale. 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.

Le Regioni e PP.AA., informando il Ministero della Salute e CESME, possono decidere di sospendere la sorveglianza entomologica nel momento in cui l'unità geografica di riferimento risulti interessata da circolazione virale. Detta possibilità non è attuabile per le trappole entomologiche che risultano in prossimità di altre unità geografiche di riferimento (intra o extra regionali) ancora indenni da circolazione virale. Non va comunque trascurato il valore di una sorveglianza entomologica continua: la scelta di mantenerla in atto, a prescindere dalle positività riscontrate, permette di raccogliere dati relativi alla circolazione virale per addivenire a una migliore stima del Vector-Index e a una maggiore comprensione delle dinamiche ecologiche e meteoclimatiche che influenzano l'andamento di tale circolazione.

I campioni, accompagnati dalla scheda W05, devono essere inviati all'IZS competente per territorio che provvede ad effettuare l'identificazione degli esemplari catturati e la preparazione di appositi pool. Tenuto conto che, minore è la dimensione dei pool, maggiore è la capacità di rilevare circolazione virale, i pool devono essere composti da un massimo di 200 esemplari della stessa specie. Su detti campioni devono essere eseguiti i test RT-PCR specifici per WNV e USUV.

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 WND e Usutu secondo quanto riportato al capitolo 11.

In caso di positività ad uno dei due test RT-PCR, i campioni (omogenato del pool di insetti e relativo RNA) devono essere inviati al CESME quanto prima (entro e non oltre 2 giorni lavorativi). Il CESME deve effettuare 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, al CNS e CNT.
Deve essere assicurata la tempestività tra raccolta, analisi ed eventuale conferma che non deve superare i 14 giorni lavorativi. In allegato 5 si riportano le procedure operative per le catture entomologiche e la gestione dei campioni.

7 Ulteriore sorveglianza della circolazione WNV e USUV nelle aree a basso rischio di trasmissione (BR)

Oltre alle attività di sorveglianza descritte al paragrafo 5, per le aree a basso rischio di trasmissione devono essere attivate le seguenti sorveglianze. Per poter meglio uniformare tali attività nell'ambito delle aree BR si considera come unità geografica di riferimento il territorio della Provincia.

7.1 Sorveglianza su uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio

Ogni provincia è suddivisa in zone di 1600 Km^2 al fine di uniformare il numero di prelievi effettuati per unità di superficie (Tabella 2). In presenza di particolari condizioni geografiche ed orografiche i Piani Regionali possono rimodulare il numero di zone programmato e riportato in Tabella 2.
La sorveglianza sulle specie bersaglio sarà svolta secondo le indicazioni contenute nel capitolo 6.1.

7.2 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 devono essere 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 4. All'interno di ciascun allevamento devono essere sottoposti a prelievo solo gli animali di età inferiore ai 6 mesi. In Tabella 5 è riportato il numero di animali da prelevare. Le attività di campionamento devono iniziare a marzo e terminare entro la fine di novembre avendo cura di distribuire i prelievi con cadenza mensile. Ove possibile, i prelievi possono essere effettuati contestualmente a quelli del piano di sorveglianza 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 EDTA[4] (minimo 2 ml di sangue per provetta da conservare alla temperatura di +4 °C).
I campioni, accompagnati dalla scheda W01 già pre-compilata nella parte anagrafica (vedi le indicazioni contenute nel capitolo 11 del presente documento), sono inviati all'IZS competente per territorio che provvede

[4] Non usare l'eparina come anticoagulante perché interferisce con la PCR.

ad effettuare l'esame di prima istanza (ELISA) sul siero e, in caso di positività, i test RT-PCR per verificare la presenza di WNV e USUV sul sangue con EDTA. In caso di positività i campioni (siero e sangue con EDTA) devono essere inviati quanto prima al CESME per la conferma (comunque entro e non oltre 2 giorni lavorativi). Il CESME deve effettuare 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, al CNS e al CNT.

7.3 Sorveglianza entomologica

Poiché lo scopo principale della sorveglianza entomologica è quello di rilevare, il più precocemente possibile, la circolazione sul territorio del WNV e dell'USUV, la sensibilità del sistema di sorveglianza è un elemento cruciale.
In considerazione delle caratteristiche eco-climatiche locali e della variabilità delle condizioni epidemiologiche riscontrabili nei territori a basso rischio di trasmissione, la sorveglianza entomologica deve essere pertanto focalizzata il più possibile alle aree dove massima è la probabilità che si abbia la circolazione dei virus. È, quindi, necessario un approccio che, tenendo in debito conto le peculiari condizioni eco-climatiche e le relative variabili epidemiologiche di una determinata area, permetta di definire piani di sorveglianza realmente mirati.
Per tali motivi, il servizio veterinario regionale delle Regioni nelle quali siano presenti aree BR, con il supporto dei competenti IIZZSS e in collaborazione con il CESME, devono definire entro il mese di aprile le porzioni di territorio che per le loro caratteristiche si ritengono adatte all'instaurarsi di un ciclo di trasmissione WNV tra l'avifauna e le zanzare. In questi territori va applicata una sorveglianza entomologica con le medesime caratteristiche descritte al precedente paragrafo 6.2 relativo alle aree AR.

8 Interpretazione dei risultati diagnostici

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

- positività al test ELISA in soggetti di allevamenti avicoli rurali o all'aperto di età inferiore ai sei mesi;
- sintomatologia clinica riconducibile a encefalomielite di tipo West Nile in equidi di cui all'articolo 1, comma 2 dell'OM 4 agosto 2011 e s.m. e i.;
- 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 IIZZSS competenti per territorio.

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

- positività al test ELISA in soggetti di allevamenti avicoli rurali o all'aperto di età inferiore ai sei mesi,
- positività al test RT-PCR in organi o sangue di uccelli (catturati, campionati, ritrovati morti) effettuato presso gli IIZZSS competenti per territorio,
- positività al test RT-PCR in pool di zanzare effettuato presso gli IZS competenti per territorio.

Tutti i casi sospetti nell'ambito delle attività di sorveglianza veterinaria devono essere confermati dal CESME.

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

- risponde ai criteri clinici (vedi definizione di caso, Allegato 1) e presenta risposta anticorpale IgM specifica al WNV/USUV 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 di WND è considerato **confermato** quando si ha:

- 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 e/o agli esami molecolari (RT-PCR) in equidi con sintomatologia clinica riconducibile a WND riscontrata presso gli IIZZSS 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 IIZZSS competenti per territorio e confermata dal CESME,
- positività al test RT-PCR in pool di zanzare riscontrata presso gli IIZZSS competenti per territorio e confermata dal CESME.

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

- 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 RT-PCR in organi o sangue di uccelli (catturati, campionati, ritrovati morti), riscontrata presso gli IIZZSS competenti per territorio e confermata dal CESME,
- positività al test RT-PCR in pool di zanzare riscontrata presso gli IIZZSS competenti per territorio e confermata dal CESME.

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

- isolamento del WNV/USUV nel siero, nelle urine e/o nel liquor umano,
- identificazione dell'acido nucleico del WNV/USUV nel sangue, nelle urine e/o nel liquor umano,
- risposta anticorpale specifica al WNV/USUV (IgM) nel liquor umano,
- titolo elevato di IgM WNV/USUV e identificazione di IgG WNV/USUV nel siero e conferma mediante neutralizzazione.

Si fa presente che non essendo disponibili in commercio test molecolari e per la rilevazione di IgM specifiche per la diagnosi di USUV, è raccomandato l'invio dei campioni ai Laboratori Regionali e/o al Laboratorio Nazionale di Riferimento per l'esecuzione di saggi *in house* eventualmente disponibili.

9 Misure da adottare in caso di positività

Nel ribadire che l'obiettivo principale della sorveglianza integrata medico-veterinaria è quello di individuare precocemente la circolazione di WNV sul territorio nazionale, di seguito sono riportate le misure utili a prevenire la trasmissione del virus.

9.1 Misure specifiche relative alla sorveglianza veterinaria

Qualora si abbiano casi confermati di WNV in **equidi**, andrà condotta un'indagine epidemiologica volta a definire il probabile sito di infezione dell'animale infetto; inoltre nelle aree BR e RM, il servizio veterinario dell'ASL deve effettuare la visita clinica ed il prelievo di campioni di siero in un campione degli equidi presenti nell'azienda secondo la numerosità descritta in Tabella 5. 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 quanto prima al CESME, (entro e non oltre 2 giorni lavorativi). Il CESME deve effettuare 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 l'indagine epidemiologica suggerisca una recente circolazione virale, nell'azienda va effettuato un campionamento entomologico al fine di individuare le specie di zanzare coinvolte e stimare la prevalenza dell'infezione nei vettori. Vanno utilizzate trappole CDC con innesco a CO_2 o Gravid. In aggiunta si possono impiegare altri metodi di cattura, come le raccolte larvali e quelle degli adulti, utilizzando le trappole BG Sentinel o gli aspiratori elettrici o a bocca (Allegato 5). Il protocollo di campionamento entomologico (metodi di cattura, frequenza e durata) è stabilito di volta in volta dall'IZS competente per territorio, sentito il CESME, anche tenendo conto delle attività di sorveglianza entomologica già in essere nell'area interessata. In caso siano intraprese azioni di controllo del vettore, il campionamento può eventualmente essere utilizzato per valutare l'efficacia del controllo stesso (vedi §9.2 ed allegato 4).

Qualora si abbiano casi confermati di WND in soggetti di **allevamenti avicoli rurali** o **all'aperto**, il servizio veterinario dell'ASL, ricevuta la comunicazione della conferma di positività, dispone il sequestro dell'allevamento e l'abbattimento dei capi dell'allevamento, notifica il focolaio in SIMAN nel rispetto di quanto indicato nel paragrafo 11.5 e invia 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, preleva il cuore, cervello, rene e milza di ciascun animale e li testa mediante RT-PCR per rilevare la presenza di WNV e USUV. I campioni positivi (parti di organo, omogenato, RNA) devono essere 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 deve effettuare gli esami di conferma e trasmettere 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, al CNS e al CNT.

Qualora l'allevamento avicolo in cui si rileva positività sia esterno all'area oggetto di sorveglianza entomologica il relativo Piano di cui al precedente paragrafo 7.3, deve essere rivisto e ampliato così da comprendere anche la zona in cui è localizzato l'allevamento.

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

- intensificare le attività di rimozione dei focolai larvali e le attività larvicide nei focolai non rimovibili nel territorio;
- potenziare l'informazione affinché le persone che vivono o lavorano nell'area provinciale interessata adottino le misure di protezione individuale (vedi § 10.1 *"Raccomandazioni generali per la prevenzione delle punture di zanzare Culex spp."*) e collaborino alle attività di rimozione dei focolai larvali e alla attività larvicide nei focolai non rimovibili nelle aree private;
- sensibilizzare i MMG, PLS;
- 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 presenza di cluster di 2 o più casi umani di forme neuroinvasive in ambiente estesamente o mediamente urbanizzato, la cui correlazione spazio temporale sia stata confermata mediante indagine epidemiologica, procedere eventualmente con interventi adulticidi nelle immediate vicinanze del luogo di presunta esposizione dei casi secondo quanto riportato in allegato 4;
- in particolari siti ritenuti sensibili, come ospedali, strutture residenziali protette, aree ricreative, parchi pubblici ecc., oppure in occasione di eventi sociali all'aperto, quali fiere o sagre, che si svolgano tra il crepuscolo e la notte, valutare l'applicazione di un intervento mirato di disinfestazione con adulticidi.

L'attività di controllo dei vettori andrà eseguita seguendo le indicazioni del successivo paragrafo § 9.2 "Misure di contrasto agli insetti vettori".

Si ribadisce l'importanza del rispetto dei flussi informativi tra i Servizi di Igiene pubblica e le autorità sanitarie regionali competenti per la sorveglianza ed il controllo della malattia umana e i Servizi veterinari delle aziende sanitarie locali competenti per territorio (Ordinanza del Ministro della salute 4 agosto 2011 da ultimo prorogata con Ordinanza 13 dicembre 2018).

9.2 Misure di contrasto agli insetti vettori

In caso di riscontro di WNV in una delle matrici oggetto di sorveglianza (zanzare, avifauna, equidi, esseri umani) è necessario richiamare i Comuni a una corretta gestione del territorio con eliminazione dei focolai larvali non rimovibili e trattamenti larvicidi delle caditorie, tombini, bocche di lupo ecc. su suolo pubblico. Le Regioni/PA, in base alle specifiche condizioni locali possono valutare l'applicazione di interventi mirati di disinfestazione con adulticidi (vedi allegato 4) in particolari siti ove si concentrano soggetti a maggior rischio di contrarre o sviluppare forme neuroinvasive di WND: ospedali, strutture residenziali protette, centri di aggregazione per

anziani ecc.) o in occasione di eventi che possano richiamare grandi numeri di persone (feste, fiere o sagre) che si svolgano tra il crepuscolo e la notte.

In presenza di cluster di 2 o più casi umani di forme neuroinvasive, la cui correlazione spazio temporale sia stata confermata mediante indagine epidemiologica, occorre intensificare le attività di contrasto al vettore su tutta l'area interessata, che va calcolata a partire dalle abitazioni più esterne del cluster di casi e con metodologie ed ambiti dettagliati in Allegato 4 prevedendo:

- l'intensificazione delle attività di eliminazione dei focolai larvali e degli interventi larvicidi nei focolai non rimovibili;
- in ambiente estesamente o mediamente urbanizzato eventualmente un intervento straordinario mediante adulticidi.

Non si ritiene necessario un intervento straordinario di tipo adulticida in presenza casi umani singoli, puntiformi nello spazio e nel tempo o in ambiente rurale o scarsamente urbanizzato.

10 Misure nei confronti di persone esposte a rischio documentato di trasmissione di WNV

10.1 Raccomandazioni generali per la prevenzione delle punture di zanzare Culex spp.

Nei territori nei quali viene evidenziata circolazione virale, va potenziata l'informazione affinché le persone che vivono o lavorano in quei territori adottino le misure più idonee a ridurre il rischio di essere punte. L'informazione deve raggiungere, in particolare le persone a rischio più elevato di sviluppare la malattia neuro invasiva quali gli anziani e gli immunodepressi. Tale comunicazione può essere rivolta direttamente ai cittadini o mediata dai medici di medicina generale (MMG), i pediatri di libera scelta (PLS), gli specialisti, le Associazioni dei malati, ecc. Per ridurre il rischio di trasmissione di WNV, la misura preventiva più efficace è quella di evitare la puntura della zanzara comune, *Cx. pipiens*. In particolare, l'approccio alla prevenzione è influenzato dal livello di densità dei vettori e dalle ore di esposizione, quindi, in alcuni casi, può essere necessario adottare più misure di prevenzione tra quelle di seguito elencate:

- all'aperto, la sera, utilizzare repellenti cutanei per uso topico registrati come Presidi Medico Chirurgici (PMC), attenendosi alle norme indicate sui foglietti illustrativi, ponendo particolare attenzione al loro impiego su bambini, donne in gravidanza e in allattamento;
- all'aperto, la sera, indossare indumenti di colore chiaro che coprano la maggior parte del corpo (camicie a maniche lunghe, pantaloni o gonne lunghi e calze);
- In assenza di impianto di condizionamento d'aria, utilizzare zanzariere nei letti o alle finestre e alle porte d'ingresso avendo cura di controllare che queste siano integre e ben chiuse oppure utilizzare spray a base di piretro o altri insetticidi per uso domestico, oppure utilizzare diffusori di insetticida elettrici, areando bene i locali prima di soggiornarvi nel solo caso di presenza di questi insetti in ambienti interni.

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 compreso il sangue cordonale) e di organi, tessuti e cellule (ivi comprese le cellule staminali del sangue periferico e midollare), si rinvia alle note e ai provvedimenti assunti ed emanati dal Centro Nazionale Sangue (CNS) e dal Centro Nazionale Trapianti (CNT), ciascuno per i rispettivi ambiti di competenza, trasmessi a tutti i soggetti interessati e disponibili sul sito http://www.centronazionalesangue.it e http://www.trapianti.salute.gov.it/.
Al fine di prevenire la trasmissione dell'infezione da WNV mediante trasfusione di sangue ed emocomponenti e il trapianto di organi, cellule e tessuti, nelle aree affette si introduce quale maggiore misura preventiva l'esecuzione del test WNV NAT in singolo su un campione di sangue del donatore.

Con particolare riferimento alle misure di prevenzione della trasmissione dell'infezione da WNV mediante la trasfusione di sangue ed emocomponenti, al fine di garantire l'autosufficienza del sangue e dei suoi prodotti ed il mantenimento delle scorte di emocomponenti, si raccomanda, nelle aree non interessate dall'introduzione del test di screening per WNV, l'esecuzione del test WNV NAT in singolo campione in alternativa all'applicazione del provvedimento di sospensione temporanea per 28 giorni dei donatori con anamnesi positiva per soggiorno in area affetta. In caso di trapianto di organi, cellule e tessuti da donatore vivente e di tessuto osseo da donatore cadavere destinato al congelamento, si raccomanda di effettuare il test WNV NAT sui donatori con anamnesi positiva per soggiorno in area affetta nei 28 giorni precedenti la donazione.

Al fine di garantire la tempestiva introduzione delle misure di prevenzione della trasmissione mediante la trasfusione di sangue ed emocomponenti e il trapianto di cellule, tessuti e organi, i riscontri derivanti dalla sorveglianza entomologica e veterinaria come precedentemente descritte (insetti vettori, avifauna stanziale appartenente a specie bersaglio, animali sentinella), confermati positivi dal CESME, sono comunicati attraverso i rapporti di prova anche al CNS e al CNT. Tale flusso informativo è stato adottato nella scorsa stagione estivo-autunnale. Nel periodo di attività vettoriale, il CNS ed il CNT eseguono il costante monitoraggio delle notifiche dei casi umani di WNND attraverso la consultazione diretta del sito web http://www.simi.iss.it/inserimento_dati.htm al fine di assumere i conseguenti provvedimenti.
I donatori di sangue, organi, tessuti e cellule confermati positivi per WNV dovranno essere segnalati (Allegato 2), dalla struttura che rileva la positività alla Direzione Sanitaria competente, la quale provvederà ad attivare il flusso secondo quanto descritto nel paragrafo 11.

11 Registrazione dei dati e flussi informativi

11.1 *Forme cliniche di malattia neuro-invasiva umana*

La sorveglianza raccoglie i casi probabili e confermati (vedi definizione di caso, Allegato 1) secondo il seguente flusso:
1) il medico che sospetta il caso sulla base delle evidenze cliniche (forme cliniche caratterizzate da encefalite, meningite, poliradiculoneurite (sindrome di Guillain Barré atipica), paralisi flaccida acuta) ed epidemiologiche, deve segnalarlo alla Azienda sanitaria entro 12 ore ed inviare i campioni per la diagnosi di laboratorio:

- al laboratorio di riferimento regionale, ove identificato (vedi Allegato 3) o, in assenza, a un laboratorio di riferimento di un'altra regione, con cui esista una convenzione;
- e/o all'Istituto Superiore di Sanità - laboratorio di riferimento nazionale (tel. 06 49903205/2663, fax 06 49902813; e-mail: arbo.mipi@iss.it).

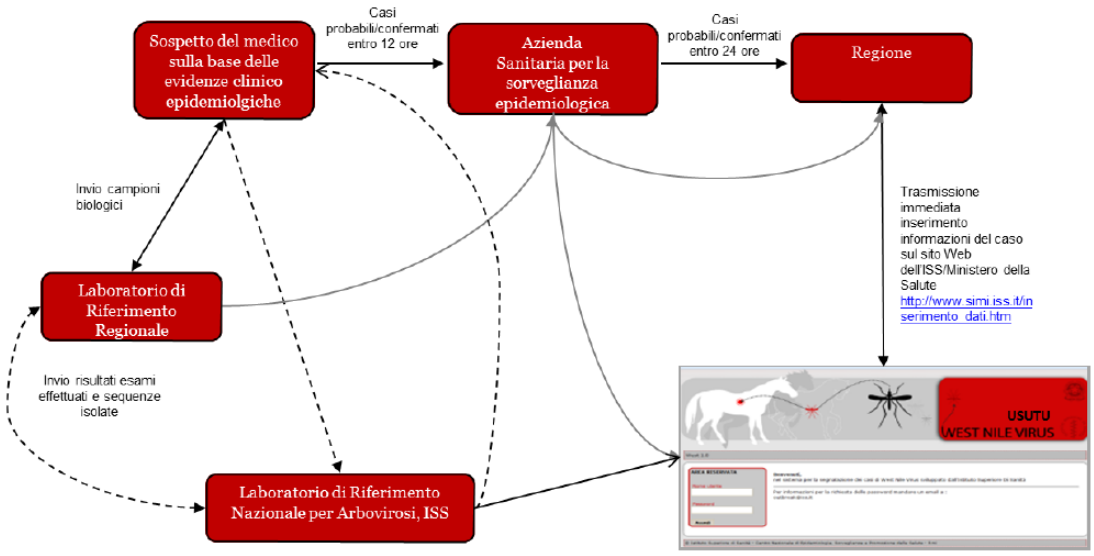
2) in caso di positività per uno dei criteri di laboratorio previsti dalla definizione di caso probabile (Allegato 1), sulla base dell'organizzazione regionale, la struttura dell'Azienda sanitaria che si occupa della sorveglianza epidemiologica invia la segnalazione, utilizzando la scheda per la segnalazione di un caso di West Nile Virus – Usutu Virus (Allegato 2), entro 24 ore, alla Regione/P.A. e da questa immediatamente inserita sul sito web https://www.iss.it/site/rmi/arbo/. 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 49902476 email: sorveglianza.arbovirosi@iss.it).

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

In particolare, se la conferma viene effettuata presso il laboratorio di riferimento regionale, questo invierà i risultati degli esami effettuati sulla base dell'organizzazione regionale. Qualora il laboratorio di Riferimento Nazionale per gli Arbovirus riceva campioni biologici, questo eseguirà i saggi di conferma e trasmetterà i risultati al laboratorio di provenienza (ad esempio laboratorio di riferimento regionale o laboratorio ospedaliero) che provvederà a sua volta a trasmetterli secondo i flussi previsti. Le Regioni/ PP.AA. provvederanno quindi ad aggiornare/inserire la scheda nella piattaforma web (https://www.iss.it/site/rmi/arbo/).

Durante la stagione di massima attività vettoriale (maggio-novembre) 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 WNV e USUV:



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).

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

Ai fini della sorveglianza, si raccomanda di indicare come "deceduti" solo casi notificati per cui il decesso è ragionevolmente attribuibile all'infezione da WNV o USUV.

11.2 Allevamenti avicoli

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 (https://www.vetinfo.sanita.it).

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

11.3 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.

11.4 Equidi – sorveglianza sindromica (sindromi neurologiche ed equidi deceduti o soppressi)

Il Servizio Veterinario dell'ASL deve prelevare, secondo le modalità descritte nel capitolo 5 del presente documento, 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.

11.5 Insetti

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

11.6 Flussi dati – sorveglianza veterinaria

Gli IIZZSS devono registrare con cadenza mensile tutti i dati degli esami effettuati sui campioni prelevati nel territorio di loro competenza, ai sensi del presente provvedimento, nel sistema informativo nazionale per la WND e l'Usutu, 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 IIZZSS territorialmente competenti, sia gli esiti degli accertamenti di conferma, eseguiti dal CESME e comunicati ufficialmente, devono essere registrati nel sistema informativo nazionale per la WND e l'Usutu dagli IIZZSS 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 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 del Piano nazionale integrato di sorveglianza e risposta ai virus West Nile e Usutu e di eventuali Piani regionali.

Il Servizio Veterinario dell'ASL deve registrare nel SIMAN puntualmente, e comunque entro 3 giorni lavorativi i casi sospetti di WND in equidi, avicoli, uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio, uccelli selvatici, e pool di

zanzare. Sulla base degli esiti di conferma il Servizio Veterinario dell'ASL competente provvede a confermare o meno in SIMAN i casi sospetti di WND entro 3 giorni lavorativi dalla ricezione degli esiti degli esami di conferma. 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. L'estinzione e chiusura dei casi confermati di WND deve avvenire entro la fine di febbraio dell'anno successivo al riscontro della positività.

11.7 Bollettino epidemiologico e flusso delle informazioni per la sorveglianza integrata di WNV e di USUV

L'identificazione tempestiva della circolazione virale, delle aree interessate e delle conseguenti attività di sorveglianza, è garantita dallo scambio costante di informazioni sulle positività riscontrate nell'ambito della sorveglianza veterinaria, entomologica ed umana tra il Ministero della Salute, l'ISS e il CESME.

Il Ministero della Salute, l'ISS e il CESME redigono settimanalmente un bollettino recante i risultati delle attività di sorveglianza integrata umana, entomologica e veterinaria nei confronti del virus West Nile e del virus Usutu.

Tabella 1. Province ricadenti nelle aree ad alto rischio di trasmissione (AR)

Regione/Provincia	Superficie totale (Km^2)	Numero di aree
Lombardia		**13**
Como	1279.04	1
Lecco	814.58	0.5
Varese	1198.11	1
Cremona	1770.46	1
Mantova	2341.44	1.5
Lodi	782.99	0.5
Brescia	4785.62	3
Pavia	2968.64	1.5
Milano	1575.65	1
Bergamo	2745.94	1.5
Monza e della Brianza	405.41	0.5
Veneto		**9**
Verona	3096.39	2
Treviso	2479.83	1.5
Venezia	2472.91	1.5
Padova	2144.15	1.5
Rovigo	1819.35	1
Vicenza	2722.53	1.5
Emilia-Romagna		**16.5**
Piacenza	2585.86	2
Parma	3447.48	2.5
Reggio nell'Emilia	2291.26	1.5
Modena	2688.02	2
Bologna	3702.32	2.5
Ferrara	2635.12	2
Ravenna	1859.44	1.5
Forlì-Cesena	2378.4	2
Rimini	864.88	0.5
Piemonte		**16**
Torino	6827	4
Vercelli	2081.64	1.5
Novara	1340.28	1
Cuneo	6894.94	4.5
Asti	1510.19	1
Alessandria	3558.83	2
Biella	913.28	0.5
Verbano-Cusio-	2260.91	1.5

Ossola		
Friuli-Venezia Giulia		**5.5**
Udine	4907.24	3.5
Gorizia	467.14	0.5
Trieste	212.51	0
Pordenone	2275.42	1.5
Toscana		**16**
Massa-Carrara	1154.68	1
Lucca	1773.22	1.5
Firenze	3513.69	2.5
Livorno	1213.71	1
Pisa	2444.72	2
Arezzo	3233.08	2.5
Siena	3820.98	3
Grosseto	4503.12	2.5
Lazio		**10.5**
Viterbo	3615.24	2.5
Roma	5363.28	4
Latina	2256.16	1.5
Frosinone	3247.08	2.5
Basilicata		**2.5**
Matera	3478.89	2.5
Sicilia		**15**
Trapani	2469.62	1.5
Palermo	5009.28	3
Messina	3266.12	2
Agrigento	3052.59	2
Caltanissetta	2138.37	1
Enna	2574.7	1.5
Catania	3573.68	2
Ragusa	1623.89	1
Siracusa	2124.13	1
Sardegna		**17.5**
Sassari	7692.09	5.5
Nuoro	5638.02	4
Cagliari (città metr.)	1248.68	1
Oristano	2990.45	2
Sud Sardegna	6530.78	5

Tabella 2. Province ricadenti nelle aree a basso rischio di trasmissione (BR)

Regione/Provincia	Superficie totale (Km^2)	Numero di aree
Liguria		**3**
Imperia	1154.78	0.5
Savona	1546.29	1
Genova	1833.79	1
La Spezia	881.35	0.5
Toscana		**0**
Prato	365.72	0
Lazio		**1.5**
Rieti	2750.52	1.5
Umbria		**5.5**
Perugia	6337.15	4
Terni	2127.18	1.5
Marche		**5.5**
Pesaro e Urbino	2567.78	1.5
Ancona	1963.22	1
Macerata	2779.34	1.5
Ascoli Piceno	1228.27	1
Fermo	862.77	0.5
Abruzzo		**3.5**
Teramo	1954.38	1
Pescara	1230.33	1
Chieti	2599.58	1.5
Molise		**3**
Campobasso	2925.41	2
Isernia	1535.24	1
Campania		**8.5**
Caserta	2651.35	1.5
Benevento	2080.44	1.5
Napoli	1178.93	0.5
Avellino	2806.07	2
Salerno	4954.16	3
Puglia		**12**
Foggia	7007.54	4.5
Bari	3862.88	2.5
Taranto	2467.35	1.5
Brindisi	1861.12	1
Lecce	2799.07	1.5
Barletta-Andria-Trani	1542.95	1

Calabria		**9**
Cosenza	6709.75	4
Catanzaro	2415.45	1.5
Reggio di Calabria	3210.37	2
Crotone	1735.68	1
Vibo Valentia	1150.64	0.5

Tabella 3. Province ricadenti nelle aree a rischio minimo di trasmissione (RM)

Regione/Provincia	Superficie totale (Km^2)
Valle d'Aosta	
Valle d'Aosta	3260.90
Prov. Aut. Bolzano/*Bozen*	7398.38
Prov. Aut. Trento	6207.12
Lombardia	
Sondrio	3195.76
Veneto	
Belluno	3672.26
Toscana	
Pistoia	964.12
Abruzzo	
L'Aquila	5047.55
Basilicata	
Potenza	6594.44

Tabella 4. Numero di allevamenti da campionare per la ricerca del WNV e dell'USUV.
(Campione per il rilievo dell'infezione nel 5% degli allevamenti con il 95% di L.C.)

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 5. Numero di capi da sottoporre a prelievo per la ricerca del WNV e dell'USUV.
(Campione per il rilievo dell'infezione nel 10% degli animali con il 95% di L.C.)

Popolazione	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

Allegato 1

	West Nile	***Usutu***
Criterio clinico	Qualsiasi persona che presenti febbre o almeno una delle seguenti manifestazioni cliniche: - encefalite; - meningite a liquor limpido; - poliradicolo-neurite (simil Guillain-Barré); - paralisi flaccida acuta.	Qualsiasi persona che presenti febbre o almeno una delle seguenti manifestazioni cliniche: - encefalite; - meningite a liquor limpido; - poliradicolo-neurite (simil Guillain-Barré); - paralisi flaccida acuta.
Criteri di laboratorio[1]	Test di laboratorio per caso probabile: - Risposta anticorpale IgM specifica al WNV nel siero; Test di laboratorio per caso confermato (almeno uno dei seguenti): - 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.	Test di laboratorio per caso probabile: - Risposta anticorpale IgM specifica all'USUV* nel siero; Test di laboratorio per caso confermato (almeno uno dei seguenti): - isolamento dell'USUV nel siero, nelle urine e/o nel liquor; - identificazione dell'acido nucleico dell'USUV* nel sangue, nelle urine e/o nel liquor; - risposta anticorpale specifica all'USUV (IgM)* nel liquor; - titolo elevato di IgM USUV* e identificazione di IgG USUV nel siero e conferma mediante neutralizzazione.
Classificazione		
Classificazione – Possibile	Non Applicabile	Non Applicabile
Classificazione – Probabile	Persona che soddisfa il criterio clinico ed il criterio di laboratorio per caso probabile.	Persona che soddisfa il criterio clinico ed il criterio di laboratorio per caso probabile.
Classificazione – Confermato	Persona che soddisfa almeno uno dei criteri di laboratorio per caso confermato	Persona che soddisfa almeno uno dei criteri di laboratorio per caso confermato

* N.B: non disponibili in commercio test molecolari e per la rilevazione di IgM specifiche per la diagnosi di USUV: si raccomanda l'invio dei campioni ai Laboratori di Riferimento per l'esecuzione di saggi in house eventualmente disponibili.

[1] I risultati di laboratorio vanno interpretati in funzione della presenza o meno di vaccinazione contro i flavivirus.

Allegato 2

SCHEDA PER LA SEGNALAZIONE DI UN CASO DI

WEST NILE VIRUS - USUTU VIRUS

Anno 2019

I dati della scheda dovranno essere inseriti nel portale al seguente indirizzo ***https://www.iss.it/site/rmi/arbo/***[1]

West Nile Virus (WNV)|__| Usutu Virus (USUV)|__| Coinfezione WNV / USUV |__|

Dati della segnalazione

Data di segnalazione: |_____|

Regione: |_____| **Asl:** |_____|

Dati di chi compila la scheda

Nome e Cognome del Medico: |_____|

Telefono: |_____| **E-mail:** |_____|

Informazioni Generali

Nome: |_____| **Cognome:** |_____|

Sesso: M|__| F|__| **Data di nascita:** |_____|

Donatore: **Si|__|** **No|__|** **Ha donato nei 28 giorni precedenti:** Si|__| No|__|

Tipologia di donatore: Sangue |__| Cellule |__| Tessuti |__| Organi |__|

Luogo di più probabile esposizione: (presenza nel luogo nelle 3 settimane precedenti l'inizio della sintomatologia)

Nazione: |_____|

Se ITALIA, **Indirizzo:** |_____| **Comune:** |_____|

Indicare se si tratta di: Domicilio abituale|__| Altro domicilio|__|

Anamnesi

Per TRASFUSIONE di sangue o emocomponenti nei 28 giorni precedenti l'inizio dei sintomi? Si|__| No|__| Non noto|__|

Per TRAPIANTI di organi/tessuti/cellule nei 28 giorni precedenti l'inizio dei sintomi? Si|__| No|__| Non noto|__|

Informazioni sullo Stato Vaccinale

Il paziente è stato vaccinato per:

Tick Borne Encephalitis:	Si|__|	No|__|	Non noto|__|
Febbre Gialla:	Si|__|	No|__|	Non noto|__|
Encefalite Giapponese:	Si|__|	No|__|	Non noto|__|

Informazioni Cliniche

Presenza di sintomi: Si|__| No|__|*

Febbre: Si|__| No|__| Non noto|__| **Data inizio febbre/altri sintomi:** |_____|

[1] Solo nel caso in cui non sia possibile l'inserimento dei dati nel portale, compilare la scheda in stampatello in modo leggibile e inviarla via fax o email sia al Ministero della Salute (fax: 06 59943096 e-mail: malinf@sanita.it) che all'ISS (fax 06 49902476 email: sorveglianza.arbovirosi@iss.it).

Manifestazione clinica: Encefalite |__|
Meningite |__|
Poliradiculoneurite |__| (Sindrome di Guillain Barrè atipica)
Paralisi flaccida acuta |__|
Altro, *specificare* |__| _____

Condizioni di rischio pre-esistenti: Si|__| No|__| Non noto|__|

Se si, *specificare* _____

Il paziente è stato ricoverato? Si|__| No|__| Non noto|__|

Se si, **Data ricovero:** |_____| **Nome Ospedale**: |_____|

Esami di Laboratorio

LIQUOR: Si|__| No|__| Non noto|__|
Data prelievo del campione: |_____|
|__| IgM Pos|__| Neg|__| Dubbio|__|
|__| IgG Pos|__| Neg|__| Dubbio|__|
|__| PCR Pos|__| Neg|__| Dubbio|__|
|__| Isolamento virale Pos|__| Neg|__|

SIERO / SANGUE: Si|__| No|__| Non noto|__|
Data prelievo del campione: |_____|
|__| IgM Pos|__| Neg|__| Dubbio|__|
|__| IgG Pos|__| Neg|__| Dubbio|__|
|__| Neutralizzazione Pos|__| Neg|__| Dubbio|__|
|__| PCR Pos|__| Neg|__| Dubbio|__|
|__| Test NAT Pos|__| Neg|__| Dubbio|__|
|__| Isolamento virale Pos|__| Neg|__|

URINE: Si|__| No|__| Non noto|__|
Data prelievo del campione: |_____|
|__| PCR Pos|__| Neg|__| Dubbio|__|

Solo per WNV, se effettuato il sequenziamento indicare: Lineage 1: |__| Lineage 2: |__| Altro: |_____|

Invio del campione al Laboratorio presso ISS: Si|__| No|__| se si**, Data di invio:** |_____|

Esito e Follow-up (aggiornare a 30 giorni)

Esito: Guarito |__| **Data Esito (ultimo aggiornamento):** |_____|
In miglioramento |__|
Grave |__|
Deceduto* |__|
Non noto |__|
Non applicabile |__|
Comparsa di sintomi successiva a riscontro NAT positiva |__|

Classificazione

		CONFERMATO	**PROBABILE**
Caso:	Neuroinvasivo	|__|	|__|
	Solo Febbre	|__|	|__|
	Sintomatico altro	|__|	|__|
	Donatore	|__|	|__|
	Asintomatico	|__|	|__|

Caso: AUTOCTONO (stessa Regione) |__| AUTOCTONO (proveniente da altra Regione) |__| IMPORTATO |__| (da Stato Estero)

Note: _____

*Si raccomanda di indicare nel sistema di sorveglianza come "deceduti" solo casi notificati per cui il decesso è ragionevolmente attribuibile all'infezione notificata.

Allegato 3

ELENCO LABORATORI REGIONALI DI RIFERIMENTO PER LA DIAGNOSI NELL'UOMO DELLE MALATTIE TRASMESSE DA ARTROPODI

REGIONE EMILIA-ROMAGNA:
Laboratorio CREEM c/o Unità Operativa di Microbiologia Azienda Ospedaliero, Universitaria di Bologna
Via Massarenti, 9
40138-BOLOGNA
Email: mariacarla.re@unibo.it; giada.rossini@unibo.it
Tel: 0512144316
Fax: 0512143076
Referente: Prof.ssa Maria Carla Re

FRIULI VENEZIA GIULIA:
SC UCO Igiene e Sanità Pubblica
Università di Trieste
ASUITS - Ospedale di Cattinara
Strada di Fiume, 447
34149 TRIESTE
Tel. 040 933 4623
Cell. 340 0838558
Email*:* pierlanfranco.dagaro@asuits.sanita.fvg.it
pdagaro@units.it
Referente: Prof. Pierlanfranco D'Agaro

REGIONE LAZIO:
Unità Operativa Complessa Laboratorio di Virologia e Laboratori di Biosicurezza I.N.M.I. - I.R.C.C.S. "Lazzaro Spallanzani"
Via Portuense, 292
00149-ROMA
Email: maria.capobianchi@inmi.it; segreviro@inmi.it;
Tel: 0655170434 - 0655170690
Fax: 065594555
Referente: Dott.sa Maria R. Capobianchi

REGIONE LIGURIA
Dipartimento di Scienze della Salute (DiSSal) dell'Università degli studi di Genova
UO Igiene
Via Pastore,1
16132 Genova
Email: icardi@unige.it
Tel. 010/5552996
Fax. 010/5556745
Referente: Prof. Giancarlo Icardi

REGIONE LOMBARDIA:
Laboratorio di Microbiologia, Azienda Ospedaliera "L. Sacco"
Via G. B. Grassi, 74
20157 MILANO
Email: microbiologia@hsacco.it
Tel: 0239042239 - 02.50319831
Fax: 0250319832
Referente: Dott.ssa M. Rita Gismondo

S.S. Virologia Molecolare, S.C. Microbiologia e Virologia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo
Via Taramelli, 5
27100 PAVIA
Email: f.baldanti@smatteo.pv.it
Tel: 0382502633 - 0382502283
Fax: 0382502599
Referente: Prof. Fausto Baldanti

REGIONE MARCHE:
SOD Virologia, Azienda Ospedaliero-Universitaria Ospedali Riuniti di Ancona
Via Conca, 71 Torrette di Ancona
60020 - Ancona
Email: p.bagnarelli@univpm.it
Tel: 0715964928 - 0715964849
Fax: 0715964850
Referente: Prof.ssa Patrizia Bagnarelli

REGIONE PIEMONTE:
Laboratorio di Microbiologia e Virologia del Dipartimento di Malattie infettive, Ospedale Amedeo di Savoia di Torino
Corso Svizzera, 164
10149 TORINO
Email: valeria.ghisetti@unito.it
Tel: 0114393838
Fax: 0114393912
Referente: Dott.ssa. Valeria Ghisetti

REGIONE PUGLIA:
Unità Operativa Complessa di Igiene, Laboratorio di Epidemiologia molecolare, Azienda Ospedaliero-Universitaria Policlinico di Bari
Piazza Giulio Cesare
70124 BARI
Email: maria.chironna@uniba.it
Tel: 0805592328
Fax: 0805478472
Direttore: Prof. Michele Quarto
Referente: Prof.ssa Maria Chironna

REGIONE SARDEGNA:
A.O.U. di Cagliari c/o San Giovanni di Dio
Via Ospedale
09124 CAGLIARI
Tel: 0706092224
Fax: 0706092516
Referente: Dott. Ferdinando Coghe

REGIONE SICILIA:
U.O. DIPARTIMENTALE DIAGNOSTICA SPECIALISTICA PATOLOGIE DIFFUSIVE
Azienda Ospedaliera Universitaria "P. Giaccone" di PALERMO
Via del Vespro, 141
90127 PALERMO
Email: giustina.vitale@unipa.it
Cell: 3294170977
Referente: Dott.ssa Giustina Vitale

REGIONE TOSCANA:
UOC virologia Universitaria Azienda Ospedaliero - Universitaria Pisana
PISA
Email: mauro.pistello@med.unipi.it
Tel: 0502213781
Fax: 0502213524
Referente: Prof. Mauro Pistello

Laboratorio di microbiologia e virologia Azienda Ospedaliero, Universitaria Careggi
FIRENZE
Email: gianmaria.rossolini@unifi.it
Tel: 0557949285 - 0557949287 - 0557945749
Cell. 3488513062
Referente: Prof. Gian Maria Rossolini

Laboratorio microbiologia e virologia, Azienda Ospedaliero - Universitaria Senese
SIENA
Email: cusi@unisi.it
Tel: 0577233850
Fax: 0577233870
Referente: Prof. Maria Grazia Cusi

PROVINCIA AUTONOMA TRENTO:
Unità Operativa di Microbiologia e Virologia, presidio ospedaliero S. Chiara
Largo Medaglie d'Oro, 9
38122 TRENTO
Email: paolo.lanzafame@apss.tn.it
Tel: 0461903270
Fax: 0461903615
Referente: Dott. Paolo Lanzafame

PROVINCIA AUTONOMA BOLZANO:
Laboratorio Aziendale di Microbiologia e Virologia
Comprensorio Sanitario di Bolzano
Azienda Sanitaria della Provincia Autonoma di Bolzano
Via Amba Alagi 5, 39100 Bolzano
Email: elisabetta.pagani@sabes.it
Tel: 0471907300
Fax: 0471272631
Referente: Dott.ssa Elisabetta Pagani

REGIONE VENETO:
Centro Regionale di Riferimento di Genofenotipizzazione ed Epidemiologia molecolare degli agenti da infezione per la Diagnostica microbiologica e virale, U.O.C. di Microbiologia e Virologia, Azienda Ospedaliera Universitaria di Padova
Via Giustiniani, 2
35128 PADOVA
Email: giorgio.palu@unipd.it
Tel: 0498272350; 0498211325
Fax: 0498211997
Referente: Prof. Giorgio Palù

LABORATORI DELLA RETE DEGLI IIZZSS CHE EFFETTUANO I TEST DI PRIMA ISTANZA PER LA DIAGNOSI DI WNV E USUV

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DEL LAZIO E DELLA TOSCANA

Sede di **ROMA**
Diagnosi sierologica
Email: teresa.scicluna@izslt.it
Via Appia Nuova ,1411
Tel: 0679099315
Fax:0679340724
Referente: Dott.sa Maria Teresa Scicluna

Diagnosi molecolare
Email: giuseppe.manna@izslt.it
Tel:0679099332
Fax 0679340724
Referente: Dott. Giuseppe Manna

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA

Sede di **BRESCIA**
Diagnosi sierologica e molecolare
Email: virologia@izsler.it; davide.lelli@izsler.it
Via Bianchi, 9
Tel. 0302290361
Fax: 0302290535
Referente: Dott. Davide Lelli

Sede di **REGGIO EMILIA**
Diagnosi molecolare
Email: paolo.bonilauri@izsler.it
Via Pitagora, 2
Tel. 0522277996
Fax: 0522518639
Referente: Dott. Bonilauri Paolo

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DEL MEZZOGIORNO

Sede di **PORTICI (NA)**
Diagnosi sierologica
Email: roberto.iannone@cert.izsmportici.it
Via Salute, 2
Tel: 0817865-286
Fax: 0817763125
Referente: Dott. Roberto Iannone

Diagnosi molecolare
Email: maurizio.viscardi@cert.izsmportici.it
Tel: 0817865296 - Fax: 081 7763125
Referente: Dott. Maurizio Viscardi

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE PIEMONTE, LIGURIA E VALLE D'AOSTA

Sede di **TORINO**
Diagnosi sierologica
Email: virologia@izsto.it
Via Bologna 148
Tel: 0112686247
Fax: 0112475933
Referente: Dott.ssa Loretta Masoero

Diagnosi molecolare
Email: cristina.casalone@izsto.it
Tel: 0112686296
Fax 0112475933
Referente: Dott.ssa Cristina Casalone

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA PUGLIA E DELLA BASILICATA

Sede di **FOGGIA**
Diagnosi sierologica
Email: nicola.cavaliere@izspb.it doriano.chiocco@izspb.it
Via Manfredonia, 20
Tel: 0881786308
Fax: 0881786369
Referente: Dott. Nicola Cavaliere

Diagnosi molecolare
Email: i.padalino@izsfg.it
Tel: 0881786384
Fax: 0881786369
Referente: Dott.ssa Iolanda Padalino

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA SARDEGNA

Sede di **SASSARI**
Diagnosi sierologica e molecolare
Email: giantonella.puggioni@izs-sardegna.it
Via Vienna, 2
Tel: 0792892356
Fax: 0792892324
Referente: Dott.ssa Giantonella Puggioni

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA SICILIA

Sede di **PALERMO**
Diagnosi sierologica e molecolare
Email: giuseppa.purpari@izssicilia.it
Via G. Marinuzzi, 3
Tel: 0916565229
Fax: 0916565227
Referente: Dott.ssa Giuseppa Purpari

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELL'UMBRIA E DELLE MARCHE

Sede di **PERUGIA**
Diagnosi sierologica
Email: s.costarelli@izsum.it
Via Salvemini, 1 Perugia
Tel: 0753433036
Fax: 075343289
Referente: Dott.ssa Silva Costarelli

Diagnosi molecolare
Email: m.giammarioli@izsum.it
Tel: 0753433030'
Fax 07535047
Referente: Dott.ssa Monica Giammarioli

Sede di **ANCONA**
Diagnosi sierologica e molecolare
mail: s.gavaudan@izsum.it
Via Cupa di Posatora
Tel: 07141760
Fax: 07142758
Referente: Dott.Stefano Gavaudan

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLE VENEZIE

Sede di **LEGNARO (PD)**
Diagnosi sierologica e molecolare
Email: cterregino@izsvenezie.it
viale dell'Università, 10
Tel: 049 8084377
Fax: 0498084360
Referente: Dott. Calogero Terrigno

Allegato 4

SPECIFICHE SULL'INTERVENTO PER IL CONTROLLO DEL VETTORE (*Culex pipiens*)

Le attività di sorveglianza entomologica previste dal Piano nelle aree ad alto e a basso rischio di trasmissione (vedi § 6.2 e 7.3 *Sorveglianza entomologica* e le misure da adottare in caso di positività (vedi § 9 *Misure da adottare in caso di positività)* sono finalizzate al rilevamento precoce della circolazione virale attraverso l'individuazione di zanzare infette.
In base al tipo di positività rilevata dal Piano e alla situazione epidemiologica del caso specifico, si possono delineare diversi scenari (di seguito descritti) che richiedono differenti interventi di controllo.

1) Responsabilità

La Regione e le ASL competenti per il territorio, sono responsabili della valutazione e della gestione locale del rischio sanitario. La programmazione, la pianificazione e la valutazione degli interventi di controllo dei potenziali vettori vanno disposti e adattati localmente dal Dipartimento di Prevenzione della ASL. Tale ufficio, supportato da una struttura regionale di competenza, decide l'azione da intraprendere, avvalendosi delle competenze entomologiche disponibili sul territorio e dei Comuni ai quali è demandata l'attività di controllo del vettore. Pertanto, piani d'intervento straordinari vanno implementati e affiancati al più presto a quelli previsti dal protocollo del Piano nazionale integrato di sorveglianza e risposta ai virus West Nile e Usutu, al fine di identificare le responsabilità per le diverse azioni da intraprendere e le strutture di riferimento idonee a svolgerle.
In particolare, l'Amministrazione pubblica dovrà avvalersi di imprese di disinfestazione che siano certificate UNI EN 16636 e, qualora l'Amministrazione non disponga di una mappatura georeferenziata dei potenziali focolai larvali presenti su suolo pubblico, sarà richiesto all'impresa disinfestatrice di censire e mappare tutti i fossati, tombini, caditoie ed aree umide oggetto dei trattamenti.

2) Attivazione della procedura d'indagine nel territorio

La procedura d'indagine deve essere attivata da una struttura, rappresentata dall'Autorità Sanitaria competente, idonea a lanciare l'allarme in presenza di casi confermati o sospetti di WND o USUV, sia umani che animali. Per questi ultimi si faccia riferimento alle sezioni rilevanti del Piano Nazionale.

3) Definizione dell'area d'indagine a seguito di casi umani e relativo sopralluogo

Sebbene sia molto difficile stabilire in assoluto la distanza che una zanzara può percorrere in volo attivo, è possibile affermare che le femmine di *Culex pipiens* non si spostano molto dal focolaio larvale d'origine, né dalla fonte del pasto di sangue disponibile. Per tali presupposti, in caso di circolazione virale, l'area d'indagine viene limitata ad una superficie di circa 200 metri di raggio intorno al caso da WNV/USUV, nel luogo in cui il soggetto si è presumibilmente infettato, che non necessariamente coincide con la residenza, secondo quanto emerso dall'indagine epidemiologica. L'area d'indagine deve essere rapidamente identificata e georeferenziata, riportando nella mappa il numero e la localizzazione di tutti i possibili focolai larvali interni all'area interessata.
Il sopralluogo deve valutare la presenza e densità del vettore e l'eventuale necessità di un intervento di controllo. Nel caso si ritenga opportuno eseguire tale intervento, si dovrà valutare l'effettiva area da trattare e i siti specifici (vedi punto 4),

4) Obiettivi e modalità degli interventi di controllo

In presenza di dimostrata circolazione virale, è di cruciale importanza intervenire con tempestività e competenza. Gli interventi descritti dai protocolli operativi che seguono hanno lo scopo, tra l'altro, di circoscrivere l'area dove si sono verificati due o più casi umani di malattia neuroinvasiva o di infezione recente, tra loro correlati e di ridurre rapidamente la densità dell'insetto vettore, per impedire che zanzare già infette possano infettare altri soggetti sani o spostarsi in aree limitrofe.

A seconda dell'area affetta e delle specie colpite, è possibile distinguere diversi scenari:

a) Caso umano di malattia neuroinvasiva o di infezione recente di accertata importazione di WNV da aree nazionali ad alto rischio di trasmissione o estere: non è previsto alcun tipo di intervento di controllo straordinario.

b) Singolo caso umano di malattia neuroinvasiva o di infezione recente da WNV non seguito da uno o più casi, correlati nello spazio e nel tempo (vedi punto d): non si ritiene necessario un intervento straordinario adulticida.

c) Uno o più casi da WNV in equini, animali sentinella e specie aviarie selvatiche, nonché il riscontro dei virus in pool di zanzare: si rimanda a quanto previsto dai singoli protocolli regionali, raccomandando comunque un intervento di tipo ordinario (ricerca ed eliminazione dei focolai larvali e trattamento con larvicidi di quelli non rimovibili) al fine di contenere la crescita della popolazione del vettore nell'area d'indagine.

d) Cluster di 2 o più casi umani di malattia neuroinvasiva da WNV, la cui correlazione spazio temporale sia stata confermata mediante indagine epidemiologica, le azioni di contrasto al vettore dipendono dal diverso contesto ambientale.

d1) area estesamente urbanizzata (densità >1500 abitanti/km²; fonte Eurostat): si procede intensificando le attività di rimozione dei focolai larvali e attività larvicide nei focolai non rimovibili e procedendo eventualmente con interventi adulticidi nel luogo di presunta esposizione dei casi. In ragione della difficoltà di individuare i potenziali target (ambienti e locali con presenza di zanzare), si raccomanda accurata ispezione del territorio da parte degli operatori, che valuteranno di conseguenza la necessità di azioni di controllo.

d2) area mediamente urbanizzata (densità compresa tra 300 e 1500 abitanti/km²; fonte Eurostat): in questo contesto si può procedere intensificando gli interventi di rimozione dei focolai larvali e attività larvicide in quelli non rimovibili ed eventualmente somministrando prodotti adulticidi in un raggio di 200m dal luogo di presunta esposizione dei casi. Il trattamento dovrà riguardare tutti i potenziali target precedentemente identificati dagli operatori, quali piccole aree verdi, macchie arbustive o fabbricati di servizio, che possano dar rifugio alle zanzare adulte.

d3) area scarsamente urbanizzata o rurale (densità <300 abitanti/km²; fonte Eurostat): si procede intensificando le attività di rimozione dei focolai larvali e attività larvicide in quelli non rimovibili.

In presenza di circolazione virale in particolari siti ritenuti sensibili, come ospedali, strutture residenziali protette, aree ricreative, parchi pubblici ecc., oppure in occasione di eventi sociali all'aperto, quali fiere o sagre, che si svolgano tra il crepuscolo e la notte, è necessario valutare l'applicazione di un intervento mirato di disinfestazione con adulticidi.
Per quanto concerne tutti i principi attivi, adulticidi e larvicidi, è bene ricordare che, a parità di efficacia, devono essere scelti quelli con il migliore profilo tossicologico. Inoltre, in assenza di studi condotti su popolazioni locali di *Cx. pipiens*, si consiglia, in maniera preventiva, una rotazione dei prodotti insetticidi impiegati in certe aree, onde evitare che possano insorgere nelle zanzare forme di resistenza ad alcuni principi attivi.

Intervento adulticida. Tale attività potrà essere eseguita secondo due modalità:

1) *Intervento spaziale abbattente:* tale trattamento, da effettuarsi solo in caso di necessità e con le dovute cautele, ha lo scopo di ridurre rapidamente la densità delle zanzare già infette o che potrebbero infettarsi su uccelli viremici. A questo scopo vengono utilizzati prodotti a base di piretroidi di prima generazione sinergizzati o miscele di molecole di prima e seconda generazione (ad esempio fenotrina), veicolate in formulati senza solventi. Tenendo conto che le zanzare in genere non volano molto in alto rispetto al

suolo, i prodotti saranno distribuiti con atomizzatore o nebulizzatore puntato verso l'alto con un angolo superiore a 80°, contando poi anche su un effetto di ricaduta. I trattamenti, effettuati con automezzo idoneo che proceda a 5-10 km/h, con particolato a volume basso (goccioline intorno a 50 micron di diametro), dovranno coprire tutta l'area interessata. Per ottimizzare l'efficacia di questi principi attivi che presentano un rapido effetto abbattente, ma non duraturo, se ne consiglia un uso durante le ore notturne, sia per le abitudini crepuscolari e notturne della zanzara, sia per ridurre al minimo l'effetto denaturante della luce solare su tali insetticidi. Qualora necessario, ulteriori trattamenti potranno essere effettuati in base all'andamento del dato epidemiologico.

2) *Intervento murale di ambienti interni e semi-interni:* tale trattamento deve essere condotto solo dopo che l'indagine entomologica accerti la presenza di zanzare all'interno dei locali e con le dovute cautele. Considerando che *Cx. pipiens* è una zanzara endofila (ovvero che dopo la suzione di sangue digerisce il pasto al coperto), questo intervento ha lo scopo di colpire, in maniera mirata, gli adulti di zanzara che si riparano in certi ambienti durante il giorno. La tipologia dei locali da trattare con insetticidi ad azione residua può risultare molto variabile:

   - In ambiente urbano i trattamenti murali ad azione residua possono interessare potenziali siti di riposo della zanzara all'interno dei fabbricati (androni, sottoscala, seminterrati, cantine, lunghi ballatoi, box, locali di servizio vari) e vanno effettuati solamente dopo accurate ispezioni condotte in loco.

   - In zona rurale le zanzare possono concentrarsi all'interno di alcuni tipi di fabbricati non abitati, ma accessibili alle zanzare, quali depositi di attrezzi, fienili, garage, pollai, stalle e ricoveri animali in genere. Per questi ultimi, naturalmente, il trattamento murale deve venire effettuato in assenza degli animali stessi. Per quanto riguarda le abitazioni, si tratteranno soltanto le pareti dei locali semichiusi (terrazze, verande, porticati). Qualora porte e finestre non fossero schermate da zanzariere se ne dovrà consigliare la rapida installazione.

I trattamenti murali saranno effettuati con piretroidi ad azione residua (di seconda e terza generazione quali permetrina, deltametrina, cipermetrina, ecc.), applicati con pompe a pressione costante, in ragione di 1 litro di soluzione per 10 mq (100m^2 con pompa da 10 litri) in esterni, o in locali disabitati, utilizzando anche atomizzatori portatili. Un solo trattamento è sufficiente per assicurare la completa copertura dell'area interessata per varie settimane, ma in caso di necessità è possibile effettuare un secondo ciclo di trattamenti a distanza di 7-10 giorni dal primo.

Intervento larvicida. Per i trattamenti larvicidi è necessario tenere presente che *Cx. pipiens*, oltre a condividere gli stessi focolai con *Ae. albopictus* (contenitori di varia natura, tombini e caditoie stradali), si riproduce anche in focolai ipogei (ad esempio vasche di raccolta delle acque di falda freatica situate al di sotto degli edifici, fondamenta o cantine allagate) e, in zona rurale, in focolai di diversa natura, come canali irrigui, risaie, canalette, fossi, stagni, abbeveratoi, pozze temporanee e altri ristagni d'acqua al suolo, anche contenenti forte carica organica.
Nei casi di emergenza sopra descritti, nell'area interessata dalla circolazione virale, il trattamento larvicida deve essere intensificato rispetto agli interventi routinari condotti a calendario, e deve seguire quello adulticida, se ritenuto necessario. Per il trattamento di fossati e specchi d'acqua, la scelta preferenziale è per i larvicidi biologici a base di batteri sporigeni, estremamente selettivi, quindi efficaci sulle larve di *Cx. pipiens*, e poco nocivi per l'ambiente:

- i prodotti a base *di Bacillus thuringensis var. israeliensis* (B.t.i.), hanno una azione rapidissima (poche ore), ma rimangono attivi solo per pochi giorni, richiedendo dunque trattamenti ripetuti;
- i prodotti a base di *Bacillus sphaericus* (B.s.), presentano una azione più lenta, ma rimangono attivi anche per alcune settimane e per questo motivo potrebbero selezionare ceppi resistenti di *Cx. pipiens*;
- da alcuni anni sono disponibili sul mercato nuove associazioni tra i due batteri che uniscono i pregi dei due prodotti.

Poiché le acque presenti nelle caditoie dei tombini spesso presentano un forte carico organico, i prodotti a base di batteri sporigeni potrebbero risultare poco efficaci, risultando molto più utili in un secondo momento, nella fase di mantenimento. In tali focolai possono essere impiegati i regolatori della crescita (IGR), quali il piriproxyfen e il methoprene o prodotti analoghi (diflubenzuron). Questi principi attivi, seppure molto efficaci sulle larve di zanzara, sono considerati poco selettivi e quindi più dannosi per l'ambiente, rispetto ai prodotti a base di bacilli; inoltre presentano un'azione relativamente più lenta ma prolungata nei focolai larvali. A causa del loro meccanismo d'azione che interferisce con il processo di sviluppo e di muta dell'insetto, la valutazione dell'intervento può risultare più complessa. Al fine di massimizzare l'efficacia del trattamento, potrà utilizzarsi, qualora ritenuto necessario, un misto di IGR e batteri sporigeni.
Anche la scelta del tipo di formulati da impiegare (pastiglie, granulari, emulsioni o sospensioni concentrate) va effettuata in base alle condizioni ambientali e alle necessità operative, seguendo le indicazioni d'uso.
Per il trattamento di focolai di una certa estensione è consigliabile utilizzare formulati dispersibili in acqua (emulsioni o sospensioni concentrate) o granulari (dove fosse necessario penetrare la vegetazione acquatica) piuttosto che tavolette effervescenti o formulati micro-granulari, che sono più adatti a piccoli focolai non rimovibili in un contesto peri-domestico. Il trattamento dei tombini nei fondi privati può essere effettuato anche dai proprietari stessi dopo il primo sopralluogo dell'autorità sanitaria (sono disponibili blister di tavolette pre-dosate per un uso domestico).
In alternativa, è possibile utilizzare film monomolecolari, a base siliconica, perché mostrano una buona efficacia come mezzo fisico di controllo delle larve di zanzara. È bene ribadire che, in assenza di studi ulteriori, se ne consiglia un uso professionale, in ambiente urbano, rivolto esclusivamente al trattamento dei tombini di raccolta delle acque grigie, confinato ai sistemi fognari muniti di depuratore.
Numero e periodicità dei trattamenti, dipendono dal tipo di principio attivo e dal formulato scelti. Inoltre, sebbene alcuni formulati possano rimanere attivi per oltre 3-4 settimane, i trattamenti larvicidi vanno comunque ripetuti in caso di forti piogge.

Intervento di bonifica ambientale. Parallelamente all'intervento di disinfestazione, un'altra azione da condurre rapidamente in situazioni di emergenza, è la rimozione dei focolai larvali peri-domestici in giardini, orti, cortili, terrazzi o balconate, attraverso una capillare ispezione "porta a porta" delle abitazioni presenti nell'area interessata.

5) Interruzione del contatto uomo-vettore

Per evitare di essere punti da una zanzara in zona di circolazione virale (presenza di vettori già infetti), si può ricorrere a misure di protezione individuale, che consistono, per chi dovesse protrarre le proprie attività oltre il crepuscolo, nell'uso di un abbigliamento idoneo (che lasci scoperte il minor numero possibile di zone corporee), o di preparati insetto-repellenti per uso topico (ad esempio N-dietiltoluamide (DEET) o icaridina (KBR 3023)), da spruzzare o spalmare sulle parti scoperte del corpo. Per quanto riguarda invece le abitazioni, per evitare l'ingresso delle zanzare, si deve ricorrere all'uso di zanzariere a maglie fitte da collocare su porte e finestre. Spirali fumigene (zampironi, solo per uso esterno) o elettro-emanatori di insetticida (per interni) possono risultare utili per mantenere le zanzare lontane da aree di piccole dimensioni.

Allegato 5

Sorveglianza entomologica dei virus West Nile e Usutu: procedure operative per la cattura di zanzare e la gestione del campione.

Schema operativo per l'uso di trappole tipo CDC (o CDC-light) addizionate con CO_2

Le trappole per insetti ematofagi tipo CDC-light o tipo CDC modificata, entrambe innescate a CO_2 sono particolarmente indicate per la cattura di esemplari adulti appartenenti a differenti specie crepuscolari e notturne di Culicidi.

La trappola tipo CDC-light prevede la presenza di una lampadina (a luce bianca) come fonte di attrazione in aggiunta al ghiaccio secco che, sublimando, produce vapori di anidride carbonica (CO_2) che hanno un forte potere attrattivo sulle femmine in cerca del pasto di sangue. Possono essere utilizzate trappole dello stesso tipo modificate, che non prevedono l'installazione della lampadina.

Un comune modello di queste trappole (es. trappola tipo CDC modificata innescata con CO_2) (Figura 1), è costituito:

da un recipiente adiabatico (thermos) (1) dove si pone una quantità prestabilita di ghiaccio secco (circa 1Kg), che, sublimando produce del gas che si propaga al di fuori del contenitore grazie a dei fori (2), creando una nube di anidride carbonica sotto la trappola; può essere inoltre presente al di sotto del thermos una lampadina a luce bianca (trappola tipo CDC-light addizionata con CO_2).

- Le zanzare, attratte dal gradiente del gas (ed eventualmente dalla sorgente luminosa), entrano nel raggio d'azione di una ventola (3) azionata da un motorino elettrico che le aspira, attraverso un'imboccatura (4), spingendole in un sacchetto di tulle (5).
- La trappola, la cui ventola è alimentata da una batteria da 12V, va preferibilmente posizionata in maniera stabile e ad un'altezza tale che l'imboccatura resti a circa 1,5 mt di altezza da terra. Alberi, pali e cancellate sono ideali a questo scopo. La trappola deve essere azionata poco prima del tramonto (tra le 17:00 e le 19:00) e deve restare attiva fino al mattino seguente (circa ore 8:00).

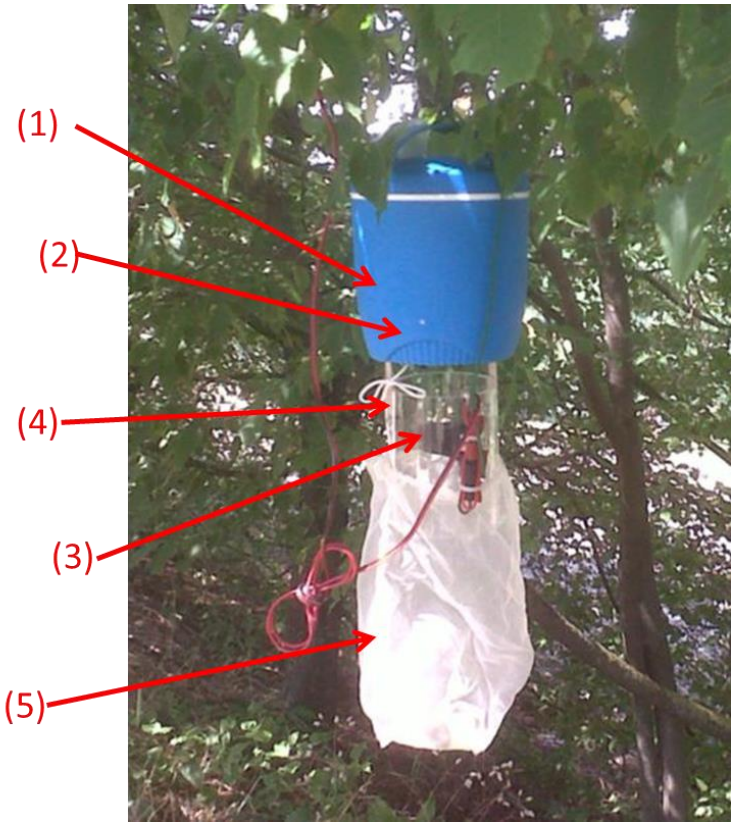


Figura 1: trappola tipo CDC modificata a CO_2.

Schema operativo per l'uso di trappole tipo Gravid

La trappola per insetti ematofagi tipo Gravid viene usata per catturare le femmine gravide di zanzare che, dovendo deporre le uova, si avvicinano all'acqua. In questo modo è possibile collezionare femmine adulte che hanno compiuto e digerito almeno un pasto di sangue, e potrebbero albergare il virus nelle ghiandole salivari.

La Gravid Trap prevede un sistema di aspirazione che poggia su un catino al cui interno vi è dell'acqua stagnante utilizzata come attrattivo. L'attrattivo è una soluzione acquosa che può essere raccolta localmente oppure preparata per simulare l'acqua trovata nell'habitat naturale. L'attrattivo può essere infatti preparato miscelando acqua, lievito di birra e fieno, il tutto lasciato a macerare per 1 o 2 giorni.

La trappola è formata da due parti (Figura 2):

- parte superiore: box con maniglia di trasporto, chiusura e cerniere (1) contenente tubo di scarico con motore e ventola, alloggio per batterie (4 pile a torcia da 1.5V), interruttore (2), tubo di aspirazione (3) e contenitore per la raccolta degli insetti (4);
- parte inferiore: vassoio (5) che fa da contenitore per l'attrattivo e da supporto per la parte superiore.

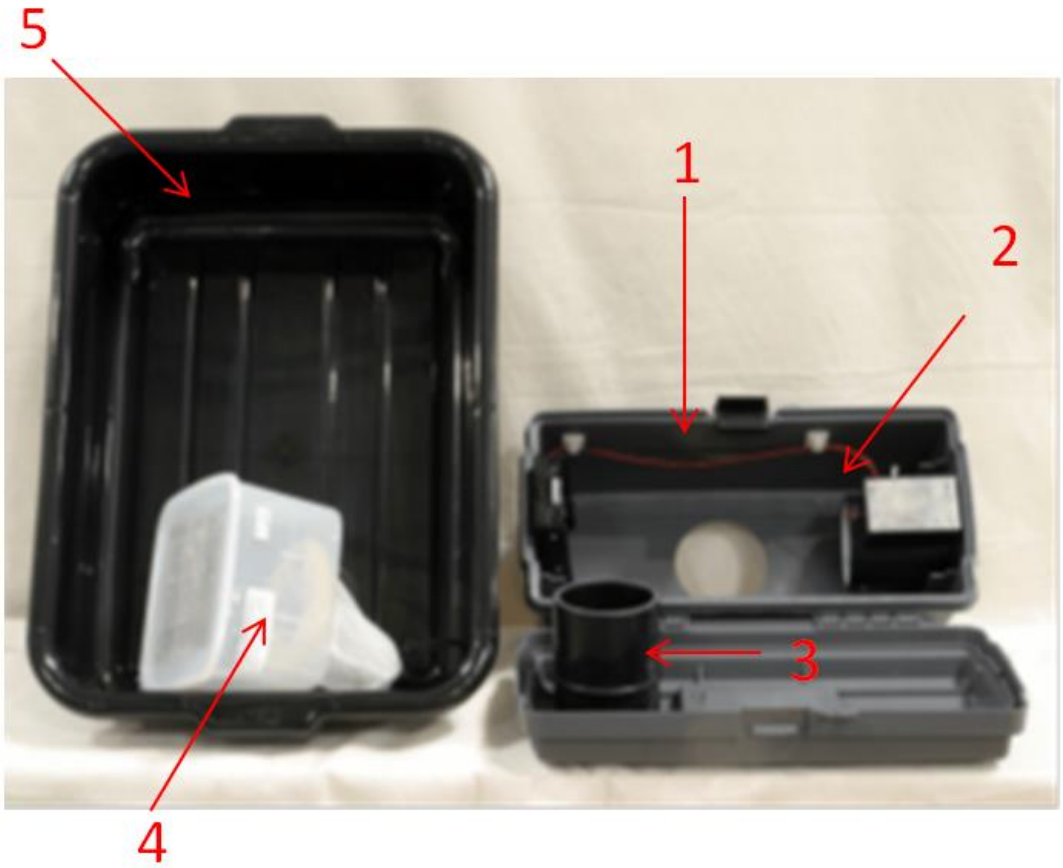


Figure 2: trappola tipo Gravid non assemblata.

Assemblaggio della trappola:

- aprire il box e togliere le parti interne;
- montare la camera di raccolta dalla parte esterna del tubo e dalla parte più corta dello stesso (Figura 3);

Figure 3: contenitore per la raccolta degli insetti e tubo di aspirazione assemblati.

- mettere il tubo di aspirazione così montato nell'apertura sul fondo del box, in modo tale che la sua estremità più lunga sia fuori dal box stesso;

Figure 4: parte superiore della trappola Gravid assemblata.

- posizionare le 4 batterie nell'apposito alloggio;
- posizionare il box sulla parte superiore del vassoio (appoggiare i piedi del box sui bordi del vassoio) (Figura 4)
- riempire il vassoio con il mix attrattivo fino a un dito dalla bocca del tubo di aspirazione
- accendere l'interruttore e chiudere il coperchio per il corretto funzionamento della trappola (Figura 5)

Figure 5: trappola Gravid assemblata e posizionata.

- La trappola, la cui ventola è alimentata da una batteria da 4 pile a torcia da 1.5V, deve essere azionata poco prima del tramonto (tra le 17:00 e le 19:00) e deve restare attiva fino al mattino seguente (circa ore 8:00).

Schema operativo per l'uso di trappole tipo BG-Sentinel

La trappola per insetti ematofagi tipo BG-Sentinel è particolarmente indicata per la cattura di esemplari adulti di specie di Culicidi diurne, ad esempio appartenenti al genere *Aedes*.

La trappola BG-Sentinel prevede l'utilizzo di sistema di aspirazione potenziato da un attrattivo artificiale (BG-Lure) che rilascia sostanze volatili che mimano quelle rilasciate dal corpo umano (combinazione di acido lattico, ammoniaca ed altre sostanze organiche).

Le zanzare, attratte dalla miscela di odori emanata dal BG-Lure (10) e spinte dal flusso di aria creato dalla ventola (7), vengono raccolte all'interno di un sacchetto in tessuto nero (3).

Assemblaggio della trappola (Figura 6):

- montare le 3 stecche (6) nella parte interna della struttura cilindrica bianca (5) in corrispondenza delle parti scoperte dell'anello metallico;
- applicare prima l'imbuto di stoffa nero aperto (2) e poi il sacchetto per la raccolta delle zanzare (3) all'imbuto di plastica nero (1) e posizionarli nella trappola, in corrispondenza del tubo di aspirazione interno (7);
- posizionare l'attrattivo nell'apposita tasca;
- coprire la trappola con il "cappuccio" di tessuto bianco tipo garza (4).

La trappola, la cui ventola può essere alimentata a corrente (220V) (8) o tramite batteria da 12V con appositi cavetti (9), deve essere posizionata a terra e deve rimanere in funzione per 24 ore dopo la sua accensione. È importante verificare la disponibilità di corrente elettrica.

Figure 6: trappola BG-Sentinel non assemblata.

Schema operativo per l'uso di aspiratori (a bocca o elettrici)

Il metodo dell'aspirazione è particolarmente indicato per catturare femmine adulte ingorgate all'interno dei siti di riposo, soprattutto lungo le pareti/soffitti di box, di pollai o di ogni tipo di ricovero animale, durante le prime ore della mattina.

• Aspiratore a bocca (Figura 7): tubo di plexiglass di circa 1.5 cm di diametro e di circa 40 cm di lunghezza collegato con un tubo flessibile di gomma per l'aspirazione; tra i due viene posto un filtro (es. velo di tulle).

Figura 7: aspiratore a bocca.

- Una volta catturate, riporre le zanzare in un bicchiere di carta/plastica chiuso superiormente con una rete a maglia sottile fissato con un elastico e sul cui fondo o sul cui lato è stato praticato un foro tale da permettere l'inserimento del tubo dell'aspiratore; chiudere poi il foro con dell'ovatta per impedire la fuga delle zanzare.

- Aspiratore elettrico: utile per la rapida cattura delle zanzare e per eliminare i rischi dell'aspirazione a bocca. Dispositivo costituito da: corpo principale con interruttore e alloggio per due pile a torcia (1,5V), contenitore di raccolta (con rete sul fondo), tappo in gomma collegato a un tubo di raccolta.

Figura 8: aspiratore elettrico.

- Una volta effettuata la cattura, togliere il tappo di gomma nero collegato al tubo di aspirazione, chiudere con l'apposito coperchio bianco, spegnere l'aspiratore e rimuovere il contenitore con le zanzare.

Figura 9: barattolo per la raccolta delle zanzare catturate con aspiratore elettrico.

Schema operativo per la cattura larvale e gestione del campione

La cattura larvale può essere utilizzata per migliorare il monitoraggio delle specie di zanzare in una data area e può fungere da valido strumento per la valutazione dell'efficacia degli interventi di lotta e controllo verso gli insetti vettori.

Dovrebbero essere ispezionati i focolai larvali siti in prossimità delle trappole per adulti ed eventualmente presenti in aree dove è stata rilevata la circolazione virale.

Per focolai larvali si intende qualunque raccolta di acqua (naturale o artificiale, perenne o temporanea) in cui vengano rinvenute, anche sporadicamente, larve di zanzara (es. aree allagate aperte e boschive, stagni o pozze, rigagnoli e ruscelli, canali di irrigazione, vasche, abbeveratoi, canalette di scolo e contenitori di varia natura).

Il campionamento va effettuato mediante un apposito «pescalarve» standard di 500 ml (o mediante l'uso di contenitori di plastica o mestoli) per prelevare l'acqua con le larve dal focolaio (Figura 10). In presenza

di raccolte d'acqua estese quali stagni, impaludamenti, canali di bonifica, ecc. gli stadi acquatici delle zanzare vanno cercati solamente lungo i bordi erbosi o in pozze isolate dal corpo d'acqua principale.

Usualmente solo le larve di 4 stadio (cioè quelle di maggiori dimensioni) sono utili per l'identificazione di specie.

Una volta che sono state raccolte, le larve possono essere trasferite con una pipetta di plastica in contenitori contenenti etanolo al 70%. Altrimenti, se l'acqua è molto sporca, filtrare con una garza stesa su un colino e sciacquare il contenuto con acqua pulita prima del trasferimento in etanolo al 70%.

- Etichettare il campione, registrando con una matita il sito e la data di cattura;
- Conservare i campioni in etanolo al 70% a temperatura ambiente, al riparo dalla luce diretta ed inviare al laboratorio accompagnato dalla scheda W05.

In alternativa, se le catture larvali sono effettuate con lo scopo di farle sfarfallare, raccogliere l'acqua con le larve in taniche che verranno chiuse con garze ed elastici (per consentire l'entrata di ossigeno). Una volta in laboratorio, mettere il contenuto delle taniche in vaschette coperte da reti a maglie sottili e aspettare che le larve sfarfallino. Una volta sfarfallate, aspirare gli adulti e procedere con la gestione del campione (zanzare adulte).

Figura 10: raccolta larvale mediante l'uso di apposito "pescalarve".

Scelta del sito per il posizionamento delle trappole per esemplari adulti

- Le trappole devono essere posizionate all'aperto.
- Non devono essere situate nei pressi di altre fonti di attrazione particolarmente forti, onde evitare fenomeni di competizione o potenziamento. Si dovranno pertanto evitare le prossimità di fonti di luce, calore, anidride carbonica ed altri attrattivi.
- La scelta deve inoltre andare incontro a ragioni di sicurezza dell'operatore che posiziona la trappola, della trappola stessa e della pubblica sicurezza a meno di essere in possesso di specifici permessi.

Il sito di campionamento deve tener presente di quelle che sono le caratteristiche ecologiche dei siti larvali delle diverse specie di zanzare che si voglia catturare. In tal senso, le attività di sorveglianza entomologiche previste dal Piano Nazionale sono programmate per rilevare precocemente la circolazione dei virus West Nile e Usutu, di cui *Culex pipiens* è il principale vettore. Il sito di campionamento dovrebbe essere individuato in aree con elevata presenza di raccolte di acqua stagnanti (es. zone irrigue, piccoli stagni, pozze con canali secondari in cui sia presente acqua ferma durante il periodo estivo). Inoltre, andrebbero preferite aree caratterizzate dalla presenza di specie migratorie di uccelli o aree in cui precedentemente è stata rilevata la circolazione del West Nile virus in altre specie animali (es. polli o equidi).

Nota: *Una volta scelto il sito, occorre che esso venga georeferenziato. Nel tempo può capitare che il sito prescelto non risulti più idoneo e pertanto se ne dovrà scegliere un altro, il più vicino possibile al primo, in modo da poter utilizzare i dati raccolti fino a quel momento*.

Predisposizione e posizionamento delle trappole

- Prima di procedere con il posizionamento delle trappole accertarsi che le batterie siano cariche.
- Verificare che sacchetti e contenitori usati per la raccolta degli insetti non presentino aperture e siano integri.
- Verificare che la ventola sia funzionante collegandola brevemente alla batteria.
- Dovuta attenzione deve essere fatta a come si sistema il materiale sul mezzo di trasporto. In particolare la strumentazione (trappole, batterie, contenitore del ghiaccio secco) devono essere disposte in modo che non si muovano troppo durante il tragitto, al fine di scongiurarne eventuali danneggiamenti o causandone l'apertura e la perdita del ghiaccio secco. Prestare attenzione anche alla disposizione delle batterie evitando che gli elettrodi non tocchino fra loro o su superfici metalliche.
- Le trappole vanno posizionate in zone protette da condizioni ambientali avverse (es. forte vento, pioggia diretta), in particolare le trappole di tipo CDC e Gravid devono essere collocate preferibilmente in zone ombreggiate e non esposte al sole del tramonto o dell'alba.

Note per la corretta gestione delle trappole tipo CDC addizionate di CO_2:

- Per stabilire la quantità giusta di ghiaccio secco da mettere in ciascuna trappola occorre tener presente anche la temperatura cui sarà esposta e il formato del ghiaccio (pellet o panetti). I pellet, specie se di piccolo diametro, sublimano più in fretta, ma sono di più facile gestione dei panetti, che spesso devono essere spezzati.
- Raccogliere il ghiaccio secco in un sacchetto di carta prima di metterlo nella trappola, per limitare la formazione di condensa sui fori di uscita del gas.
- Quando si manipola il ghiaccio secco occorre indossare guanti ad isolamento termico e occhiali, in modo da evitare ustioni per contatto con una sostanza che ha una temperatura molto al di sotto dello zero.
- Ricordarsi di portare con sé la scheda dati di sicurezza (SDS) per il ghiaccio secco, da richiedere al fornitore del ghiaccio secco.

Ritiro ed invio dei campioni presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale competente per territorio.

I sacchetti di raccolta dovrebbero essere ritirati dopo l'alba (intorno alle 8:00 del mattino), ma non troppo tardi, per evitare che tutte le zanzare muoiano per disidratazione prima del ritiro e che le batterie si scarichino, causando la perdita degli esemplari non più trattenuti dal flusso d'aria prodotto dalla ventola.

Il ritiro prevede le seguenti operazioni da eseguire necessariamente nell'ordine proposto:

1. verificare che la ventola sia in funzione prima di eseguire qualsiasi operazione; è importante eseguire le successive operazioni di raccolta delle sacche con la ventola funzionante;
2. far convogliare le zanzare verso il fondo della retina di raccolta (trappole CDC e BG-Sentinel) e stringere con una mano la retina nella sua parte priva di zanzare
3. staccare la retina (trappole CDC e BG-Sentinel) o la camera di raccolta della Gravid Trap e chiuderne l'apertura con l'apposita stringa;
4. mettere da parte il sacchetto o contenitore per la raccolta prestando attenzione a non schiacciare le zanzare;
5. staccare il cavo di alimentazione della trappola e la trappola dal suo supporto;
6. recuperare tutto il materiale (retini e strumentazione).

Durante il trasporto, i sacchi e contenitori devono essere trasportati refrigerati (+4°C) evitando che gli insetti possano essere schiacciati.

Gli insetti possono essere uccisi ponendo le retine in congelatore a -20°C per almeno 15-30 minuti. In alternativa, qualora vi sia del ghiaccio secco residuo nel suo contenitore o nel thermos della CDC, i campioni possono essere riposti al loro interno: in tal modo gli insetti vengono uccisi e rimangono conservati congelati. Successivamente gli insetti uccisi vanno riposti in provette tipo Falcon, tra due strati di cotone idrofilo non eccessivamente pigiato (Figura 11). La provetta deve contenere per circa 1/4 del suo volume del gel di silice o altro disseccante per evitare la formazione di muffe. I due strati di cotone dovranno esser posti in maniera tale che i campioni non si muovano durante la spedizione perdendo i caratteri utili all'identificazione, ma senza che i due strati schiaccino i campioni stessi. I campioni devono essere etichettati (tipo di trappola, luogo e data) e accompagnati dalla scheda W05. Va utilizzata una scheda W05 per ogni data di cattura. Per data di cattura si intende la data della mattina in cui si raccolgono gli insetti.

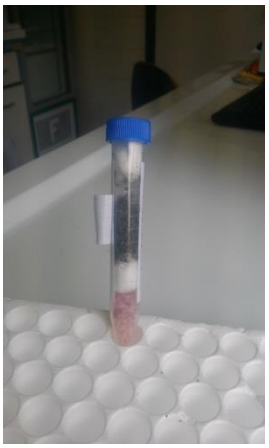


Figura 11: Falcon contente insetti disposti tra 2 strati di cotone.