

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 EDTA¹ 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 Km² 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 popolazione² 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 territorio³ - 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 IZZSS 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 Km².

In ogni area individuata deve essere posizionata almeno una trappola tipo CDC con esca a CO₂ 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 meteorologiche 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 Km² 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 EDTA⁴ (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

⁴Non 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 IZZSS 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 IZZSS 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 IZZSS 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 CO₂ 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 WNV: 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.centronazionale sangue.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).

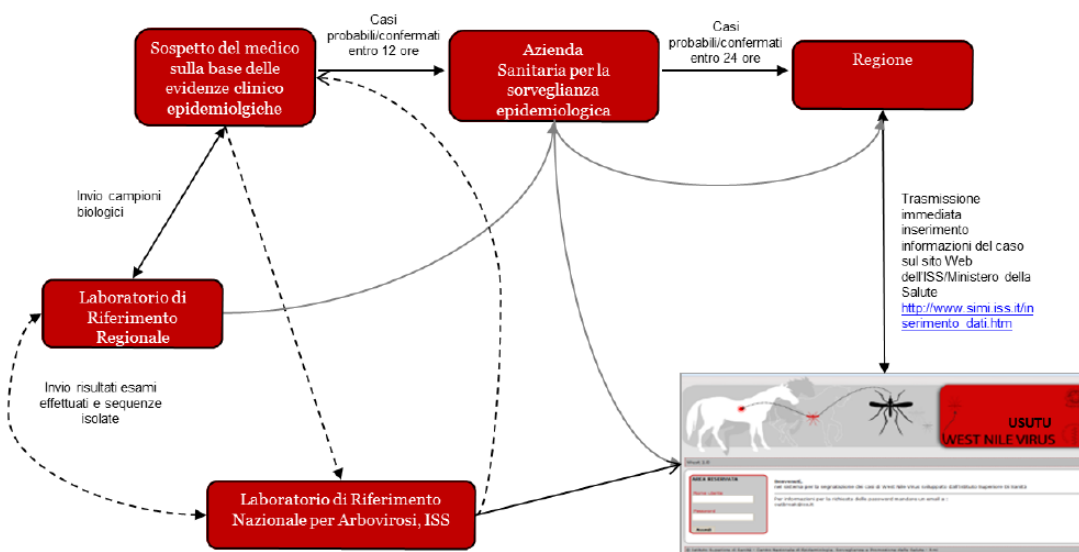
2) in caso di positività per uno dei criteri di laboratorio previsti dalla definizione di caso probabile (Allegato 1), sulla base dell'organizzazione regionale, la struttura dell'Azienda sanitaria che si occupa della sorveglianza epidemiologica invia la segnalazione, utilizzando la scheda per la segnalazione 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.arbovirus@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 IZZSS 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 IZZSS 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 IZZSS territorialmente competenti con l'identificativo (Anno/Codice sede di accettazione/Numero di Registro) utilizzato dagli stessi al momento della prima accettazione del campione. La registrazione 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 (Km²) | 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 (Km²) | 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 (Km²) |
|---------------------------------|---|
| 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 |