0016990-31/05/2017-DGPRE-DGPRE-P

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 12 di 40

Ministero della Salute

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

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

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

ASSESSORATI ALLA SANITÀ PROVINCE
AUTONOME TRENTO E BOLZANO
LORO SEDI

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

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ
ROMA

CENTRO NAZIONALE SANGUE
ROMA

CENTRO NAZIONALE TRAPIANTI
ROMA

ISTITUTI ZOOPROFILATTICI SPERIMENTALI
LORO SEDI

OGGETTO: Piano nazionale integrato di sorveglianza e risposta ai virus West Nile e Usutu - 2017

1. Introduzione

Il virus West Nile (WNV) è stato segnalato in Europa a partire dal 1958 ed è considerato il flavivirus più diffuso al mondo. Il meno noto virus Usutu (USUV), anch'esso un flavivirus, è stato osservato per la prima volta in Europa nel 1996, con un tasso di mortalità significativa tra le popolazioni di alcune specie di uccelli in Italia e successivamente in Austria ed altri paesi europei. I due virus differiscono sostanzialmente sia per l'associazione con fenomeni di elevata mortalità in uccelli, frequenti nel caso dell'USUV e rari per il WNV, sia in termini di impatto sulla sanità pubblica: se il WNV è responsabile di casi umani con sintomi neurologici gravi, la capacità di indurre forme cliniche neuroinvasive da parte dell'USUV è, ad oggi, limitata a poche segnalazioni sporadiche in Emilia Romagna. Tuttavia, i due virus condividono cicli di trasmissione simili, sono entrambi agenti zoonotici il cui ciclo biologico è caratterizzato dalla trasmissione tra zanzare ornitofiliche (soprattutto *Culex* spp.) ed alcune specie di uccelli selvatici che possono fungere da serbatoio

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 13 di 40

dell'infezione virale. I virus possono passare dalle popolazioni aviarie ai mammiferi, incluso l'uomo, attraverso i cosiddetti vettori-ponte, ovvero zanzare che compiono il pasto sia sugli uccelli che sui mammiferi. Le analogie tra i due virus includono anche un'elevata somiglianza nella sequenza aminoacidica della loro maggiore proteina di superficie, la proteina dell'*envelope*, che è l'obiettivo principale della risposta anticorpale ai flavivirus. La stretta relazione antigenica è stata confermata da studi di sieroneutralizzazione e suggerisce che i due virus possono interagire immunologicamente all'interno dell'ospite.

Complessivamente in Italia, dal 2008 al 2016 sono stati notificati oltre 210 casi umani autoctoni di malattia neuro-invasiva da West Nile (WNND), da 9 Regioni (Piemonte, Lombardia, Friuli Venezia Giulia, Veneto, Emilia-Romagna, Basilicata, Puglia, Sicilia e Sardegna) e 8 casi confermati di WNND importati. È stata inoltre segnalata la circolazione del WNV in zanzare, uccelli e cavalli sul territorio di 14 Regioni (Emilia Romagna, Veneto, Lombardia, Sardegna, Sicilia, Friuli Venezia Giulia, Piemonte, Molise, Toscana, Basilicata, Lazio, Puglia, Calabria, Liguria) con 1.333 casi confermati di infezione negli equidi e, tra questi, 193 con sintomatologia nervosa.
Le informazioni sull'evoluzione della situazione epidemiologica in Europa, nei Paesi del Bacino del Mediterraneo e in Italia sono regolarmente aggiornate e consultabili nei Bollettini epidemiologici disponibili agli indirizzi:
http://sorveglianza.izs.it/emergenze/west_nile/emergenze.html; www.iss.it/arbo; e http://www.epicentro.iss.it/problemi/westNile/bollettino.asp

Per quanto riguarda il virus Usutu, gli uccelli migratori sono i principali responsabili della diffusione del virus in nuove aree. I mammiferi (incluso l'uomo) costituiscono ospiti accidentali. Nelle zone a clima temperato la circolazione del virus è limitata ai periodi di attività dei vettori. Inizialmente isolato in Sud Africa nel 1959, USUV non è stato per lungo tempo considerato un patogeno importante per uomo e animali. A partire dal 1996 invece è stato dimostrato che USUV era la causa di morie di uccelli, sia selvatici che domestici, in Sud e Centro Europa. Nel 2009, in Italia, due casi umani di encefalite sono stati associati ad infezione da USUV, e successivamente altri casi di infezione neuroinvasiva nell'uomo sono stati riportati in Croazia. Recentemente, uno studio retrospettivo condotto in Emilia Romagna[1] ha dimostrato che patologie neurologiche causate nell'uomo da USUV non sono da considerarsi eventi sporadici, suggerendo quindi la necessità di un approccio congiunto per la prevenzione delle infezioni provocate da questi due virus.

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.

2. Obiettivi generali della sorveglianza integrata

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, insetti o mammiferi per

[1] Grottola *et al.*, Clinical Microbiology and Infection, 2017 Jan;23(1):33-37.

valutare il rischio di trasmissione della malattia all'uomo e mettere in atto tutte le misure disponibili per prevenire la trasmissione (controllo del vettore, misure nei confronti delle donazioni di sangue ed emocomponenti, organi e tessuti).
In considerazione delle analogie esistenti tra i rispettivi cicli biologici, le attività di sorveglianza previste per il WNV saranno integrate con quelle utili all'individuazione precoce della circolazione dell'USUV in quelle aree dove il virus è stato rilevato in passato e che spesso coincidono con le aree endemiche per il WNV. Il rilievo della circolazione di USUV sarà funzionale alla valutazione del rischio di infezione all'uomo e alla messa in atto delle misure per ridurre il rischio di trasmissione. La sorveglianza attiva nei confronti dell'USUV pertanto si concentrerà nelle zone endemiche dove massima è la probabilità di rilevare il virus.
Di seguito e per ciascuna attività vengono forniti i dettagli relativi alla ricerca del WNV e dell'USUV da applicare ai campioni prelevati.

2.1. 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 equidi, gli uccelli appartenenti a specie bersaglio, e gli insetti vettori per permettere una rapida valutazione del rischio finalizzata all'adozione di adeguate misure preventive in sanità pubblica.
2. Attuare in maniera tempestiva, efficace e coordinata le misure preventive necessarie per ridurre il rischio di trasmissione dell'infezione all'uomo, tramite un efficiente scambio di informazioni tra tutti gli Enti interessati.
3. Prevenire il rischio di trasmissione della malattia all'uomo sia attraverso le donazioni di sangue, emocomponenti, organi o tessuti sia attraverso la puntura delle zanzare con particolare attenzione durante il loro periodo di maggiore attività vettoriale.
4. Governare in maniera coordinata le eventuali emergenze epidemiche.

2.2. 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 per meglio definire i cicli epidemiologici di trasmissione in Italia dell'USUV.
2. Attuare in maniera tempestiva, efficace e coordinata le misure preventive necessarie a ridurre il rischio di trasmissione dell'infezione all'uomo, tramite un efficiente scambio di informazioni tra tutti gli Enti interessati.

3. Sorveglianza della circolazione virale di WNV e USUV

Le procedure operative di intervento e i flussi informativi descritti per l'anno 2017 sono adottati nell'ambito del Piano nazionale integrato di 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.

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 14 di 40

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 15 di 40

Il piano si avvale della:

1. sorveglianza su uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio. È possibile, in alternativa attuare la sorveglianza su allevamenti avicoli rurali o all'aperto o tramite l'allestimento di gruppi di polli/galline sentinella,
2. sorveglianza clinica e sierologica negli equidi,
3. sorveglianza entomologica,
4. sorveglianza su carcasse di uccelli selvatici,
5. sorveglianza dei casi umani.

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

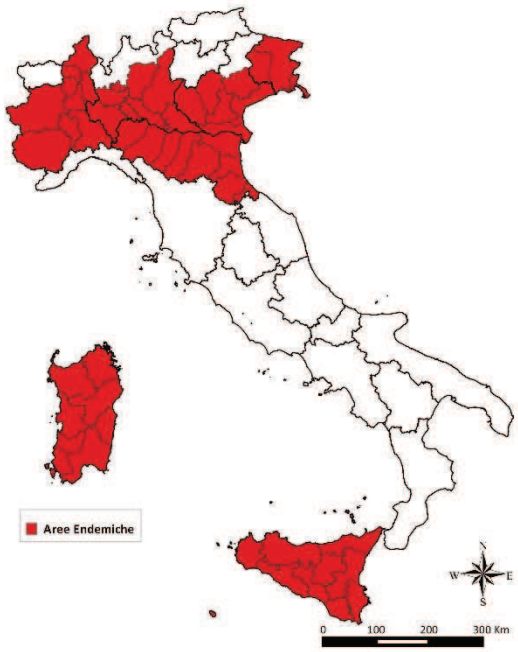
A Aree endemiche Ai fini del presente piano per aree endemiche s'intende il territorio (Provincia) dove WNV sta circolando o ha circolato nel corso degli anni precedenti e dove, quindi, si sono ripetutamente osservati episodi di infezione, nonché le aree limitrofe o subito a ridosso delle stesse (Figura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

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

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

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 16 di 40

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



B Resto del territorio nazionale. In queste aree le attività di sorveglianza prevedono il monitoraggio sierologico a campione su sieri di cavalli per rilevare la presenza di IgM, utili all'identificazione di una recente circolazione del WNV. Al fine di completare le informazioni epidemiologiche rappresentative per tutto il territorio di competenza, le Regioni possono effettuare, previa formalizzazione al Ministero e in accordo con il CESME, un monitoraggio sierologico a campione:

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

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

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

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

4. Sorveglianza nelle aree endemiche

4.1 Aree endemiche: unità geografica di riferimento

Per poter meglio uniformare le attività di sorveglianza nell'ambito dell'area endemica, si considera come unità geografica di riferimento il territorio della Provincia. Ogni provincia è stata suddivisa in zone di 1200-1600 Km^2 al fine di uniformare il numero di prelievi effettuati in province con superficie differente (Tabella 1).

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 17 di 40

4.2 Sorveglianza su uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio (WNV e USUV)

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

Appartengono alle specie bersaglio:

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

Il campionamento, sulla base dell'estensione dell'area endemica, dovrà essere eseguito ogni due settimane, secondo un calendario predefinito, si devono campionare in ogni Provincia almeno 100 esemplari di specie bersaglio ogni 1200-1600 Km^2 avendo cura di eseguire le attività di campionamento nel periodo da marzo a novembre, tenendo in considerazione il periodo durante il quale è possibile effettuare il depopolamento. Per quanto possibile i soggetti prelevati dovranno essere animali giovani e nati nell'anno.
Da ogni animale, cuore, cervello, rene e milza sono esaminati mediante i test RT-PCR per rilevare la presenza di WNV e/o USUV presso i laboratori dell'IZS competente per territorio. I campioni positivi (porzioni dell'organo, omogenato, RNA) sono inviati al più presto (comunque entro e non oltre 2 giorni lavorativi) al CESME per la conferma. Per ogni specie prelevata deve essere compilata una scheda W02 di accompagnamento. Il CESME effettua gli esami di conferma entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all'IZS competente per territorio, alla Regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute.
Nel caso non fosse possibile effettuare il campionamento delle specie bersaglio, si possono, in alternativa, campionare animali di allevamenti avicoli rurali e all'aperto (vedi paragrafo 4.3) o allestire gruppi di polli/galline sentinella da cui effettuare prelievi regolari (vedi paragrafo 4.4).

4.3 Sorveglianza in allevamenti avicoli rurali e all'aperto (WNV e USUV)

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

Nella scelta delle aziende da campionare saranno privilegiati gli allevamenti in prossimità di aree umide o comunque dove si registra un'elevata concentrazione di avifauna selvatica, sia stanziale che di passo.
Il numero di allevamenti da campionare è calcolato in base al numero delle aziende presenti in ciascuna provincia così come riportato in Tabella 2. All'interno di ciascun allevamento sono sottoposti a prelievo gli animali di età inferiore ai 6 mesi. In Tabella 3 è riportato il numero di animali da prelevare. Le attività di campionamento devono iniziare a marzo e terminare entro la fine di novembre. I prelievi possono essere effettuati contestualmente a quelli del piano di monitoraggio dell'influenza aviaria.

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 18 di 40

Gli operatori, devono prelevare per ciascun animale 2 campioni di sangue da porre in altrettante provette: una senza anticoagulante e una con EDTA[2] (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 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) sono inviati al più presto al CESME per la conferma (comunque entro e non oltre 2 giorni lavorativi). Il CESME effettua gli esami di conferma entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla Regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute.

4.4 Sorveglianza attraverso l'utilizzo di gruppi di animali sentinella (WNV e USUV)

Nelle aree dove la sorveglianza sugli uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio non può essere attivata o si prevede che non sarà in grado di raggiungere almeno il 50% dei controlli previsti, è possibile, in alternativa, utilizzare esemplari di specie avicole (polli o galline a fine carriera) in gabbia. Per ogni Provincia devono essere selezionati 4 siti di sorveglianza ogni 1200-1600 Km^2. In ciascun sito devono essere collocati 30 animali suddivisi in due gruppi di 15. Gli animali sentinella, al momento della selezione, non devono avere anticorpi nei confronti del WNV. Laddove possibile, è preferibile posizionarli in aziende zootecniche localizzate entro circa 800 metri dalle aree di concentrazione dell'avifauna e/o di zone umide (raccolte d'acqua dolce o salmastra di qualunque tipo).

Da marzo a novembre devono essere effettuati prelievi di sangue con cadenza quindicinale, alternando i prelievi sui due sottogruppi.
Gli operatori devono prelevare per ciascun animale 2 campioni di sangue da porre in altrettante provette: una senza anticoagulante e una con EDTA (minimo 2 ml di sangue per provetta da conservare a temperatura di +4°C). I campioni, accompagnati dalla scheda W01 pre-compilata nella parte anagrafica (vedi le indicazioni contenute nel capitolo 11 del presente documento), sono inviati all'IZS competente per territorio che provvede ad effettuare l'esame di prima istanza (ELISA) sul siero e, in caso di positività 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) sono inviati al CESME per la conferma al più presto (entro e non oltre 2 giorni lavorativi). Il CESME effettua gli esami di conferma entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla Regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute.

4.5 Sorveglianza entomologica (WNV e USUV)

La sorveglianza entomologica va effettuata in ciascuna unità geografica di riferimento suddividendo il territorio (< 600 m s.l.m.) in aree regolari:

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

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 19 di 40

- ove possibile le Regioni hanno facoltà di scegliere la dimensione dell'area non superando i 20 km di lato,
- in alternativa identificando le aree che nel corso dei precedenti anni hanno segnalato casi clinici confermati (umani e/o equini), sieroconversioni negli animali sentinella o positività nei culicidi; le aree più vicine a luoghi abitati e/o luoghi di escursione e/o vacanza; aree umide e con un'elevata concentrazione di avifauna selvatica.

In ogni area individuata deve essere posizionata almeno una trappola di tipo CO_2-CDC o gravid; qualora l'area interessi più regioni contigue l'esito delle catture deve essere comunicato alle Regioni competenti. Le catture devono essere effettuate con cadenza quindicinale nel periodo da marzo fino a novembre e comunque almeno fino a quando due catture consecutive non rilevino l'assenza di zanzare. Le Regioni e PP.AA. possono adattare tale periodo in base allo specifico andamento climatico e meteorologico locale, sentito il Ministero della Salute con comunicazione formale. La trappola deve essere attiva per almeno una notte (dal crepuscolo alla mattina successiva). In caso di più notti di cattura, le zanzare sono raccolte al termine di ogni notte di cattura.

I campioni, accompagnati dalla scheda W05, devono essere inviati all'IZS competente per territorio che provvede ad effettuare l'identificazione degli esemplari catturati, la preparazione di appositi pool composti da un massimo di 200 (tenendo presente che pool composti da un numero inferiore di esemplari ad esempio 100 garantiscono una maggior probabilità di rilevare la presenza di WNV) esemplari della stessa specie e i test RT-PCR per verificare la presenza di WNV e USUV sui pool di insetti.

I risultati relativi alle specie identificate (specie, numero, sesso) e ai pool analizzati per la ricerca virologica, devono essere inseriti nel sistema informativo nazionale per la WND e l'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 al più presto (entro e non oltre 2 giorni lavorativi). Il CESME effettua gli esami di conferma entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla Regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute.

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

5. Attività di sorveglianza della WND nella restante parte del territorio nazionale

5.1 Sorveglianza sierologica a campione negli equidi (WNV)

Considerata la difficoltà di trovare animali sieronegativi da arruolare nel piano di sorveglianza come animali sentinella, è istituito un piano di controllo a campione sui sieri di equidi nei confronti della WND secondo la numerosità campionaria di cui alla tabella 4, da svolgere su campioni prelevati da luglio a novembre per altri motivi (ad esempio per anemia infettiva equina) e volto ad evidenziare gli stadi iniziali d'infezione (evidenza sierologica di anticorpi IgM verso WNV) in animali sieronegativi. Nel periodo da luglio a novembre devono essere campionati complessivamente 3.706 capi, secondo la ripartizione provinciale di cui alla Tabella 4.

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 20 di 40

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

5.2 Sorveglianza sierologica a campione sui sieri di altre specie animali

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

- sui sieri di bovini ed ovi-caprini prelevati come sentinelle nell'ambito del piano di sorveglianza sierologica della bluetongue (almeno 1.852 capi secondo la ripartizione di cui alla tabella 5). Tali campioni sono selezionati casualmente dal personale degli IZS competenti per territorio e successivamente esaminati mediante metodica ELISA oppure
- su altre specie animali (ad es. cani).

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

6. Sorveglianza dei casi umani (WNV e USUV)

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

Le attività di sorveglianza dei casi umani importati e autoctoni si attuano quindi:

- per tutto l'anno su **tutto il territorio nazionale**

- **dai primi di giugno a tutto ottobre** in tutte le Regioni nelle quali sia stata identificata un'area endemica (vedi definizione sopra riportata). In queste aree la sorveglianza dei casi umani deve essere rafforzata e deve essere posta particolare attenzione alla diagnosi di malattia da WNV e da USUV nella popolazione (vedi definizioni di caso - Allegato 1). Pertanto tutte le forme cliniche di encefalite, meningite a liquor limpido, poliradicolo-neurite (simil Guillain-Barré), paralisi flaccida acuta dovranno essere sottoposte ai test

diagnostici per la ricerca di WNV e USUV. Inoltre, le Regioni e PP.AA. che occasionalmente e/o per attivazione di sistemi di sorveglianza speciali, rilevino casi confermati in soggetti che non presentano forme neuro-invasive di malattia da WNV e USUV (ad esempio febbri e/o positività in donatori), devono trasmettere tali dati al Ministero della Salute ed all'ISS tramite il flusso descritto nel paragrafo 11.

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

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

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

Nel caso di sintomatologia neurologica riferibile a WND in equidi, il servizio veterinario dell'Azienda Sanitaria Locale (ASL) competente per territorio deve darne immediata comunicazione alla Direzione Generale della Sanità Animale e dei Farmaci Veterinari e al servizio veterinario della Regione, attraverso la registrazione del sospetto nel Sistema Informativo Nazionale Malattie Animali (SIMAN). Il servizio veterinario dell'ASL esegue i prelievi di sangue con e senza anticoagulante EDTA[3] 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" sono inviati all'IZS competente per territorio che provvederà ad effettuare la prova di ELISA-IgM sul siero e la RT-PCR sul sangue con EDTA. In caso di positività i campioni devono essere inviati al CESME al più presto (comunque entro e non oltre 2 giorni lavorativi). Il CESME effettua gli esami di conferma entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla Regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute.

Qualora il sospetto riguardi animali deceduti o soppressi in seguito a sindrome neurologica, il servizio veterinario della ASL competente per territorio, in collaborazione con l'IZS competente per territorio esegue

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

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 21 di 40

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 22 di 40

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 effettua gli esami di conferma entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla Regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute.

8. Sorveglianza su carcasse di uccelli selvatici (WNV e USUV)

La sorveglianza passiva sull'avifauna selvatica si esegue su **tutto il territorio nazionale** e deve essere intensificata durante il periodo di attività degli insetti vettori. Ogni animale trovato morto, 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. Da ogni animale il cuore, cervello, rene e milza sono esaminati tramite i test RT-PCR per verificare la presenza di WNV e USUV presso i laboratori dell'IZS competente per territorio. I campioni positivi (porzioni dell'organo, omogenato, RNA) sono inviati il più presto possibile (entro e non oltre 2 giorni lavorativi) al CESME. I campioni devono essere accompagnati dalla scheda W02 debitamente compilata. Per ogni specie di uccello va compilata una distinta scheda W02 di accompagnamento. Si dovrà procedere in maniera analoga ogni qualvolta siano segnalati episodi di mortalità anomala o di aumento dell'incidenza della mortalità nell'avifauna durante il periodo di attività dei vettori. Il CESME effettua gli esami di conferma entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla Regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute.

9. Interpretazione dei risultati diagnostici

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

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

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

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 23 di 40

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

Tutti i casi probabili o 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:

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

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

- sieroconversione al test ELISA in polli o galline sentinella e confermata dal saggio di sieroneutralizzazione effettuato dal CESME,
- positività al test ELISA in soggetti di allevamenti avicoli rurali o all'aperto di età inferiore ai sei mesi confermata dal saggio di sieroneutralizzazione effettuato dal CESME,
- positività al test RT-PCR in organi o sangue di uccelli (catturati, campionati, ritrovati morti), riscontrata presso gli IZS competenti per territorio e confermata dal CESME,
- positività al test RT-PCR in pool di zanzare riscontrata presso gli IZS competenti per territorio e confermata dal CESME.

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

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 24 di 40

- rispondenza ai criteri clinici (vedi definizione di caso, Allegato 1)
- isolamento del WNV/USUV nel siero, nelle urine e/o nel liquor nell'uomo,
- identificazione dell'acido nucleico del WNV/USUV nel sangue, nelle urine e/o nel liquor nell'uomo,
- risposta anticorpale specifica al WNV/USUV (IgM) nel liquor nell'uomo,
- 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 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.

10. Misure da adottare in caso di positività

Aree endemiche

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

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

- un'indagine epidemiologica volta a definire il probabile sito di infezione dell'animale infetto,
- un campionamento entomologico, utilizzando trappole del tipo CO_2-CDC, Gravid traps, BG-Sentinel e direttamente con aspiratori al fine di individuare le specie di zanzare coinvolte ed eventualmente la prevalenza dell'infezione nei vettori. Il protocollo di campionamento entomologico (metodi di cattura, frequenza e durata) è stabilito di volta in volta tra l'IZS competente per territorio e il CESME, anche tenendo conto delle attività di sorveglianza entomologica già in essere nell'area interessata,
- la visita clinica ed il prelievo di campioni di sangue in un campione degli equidi presenti nell'azienda secondo la numerosità descritta in Tabella 3. I campioni di sangue sono inviati all'IZS di competenza con la relativa scheda W03 – Motivo del prelievo [E]: "controllo su equidi presenti nella stessa azienda in cui si trova il caso confermato". L'IZS competente per territorio provvederà ad effettuare la prova di ELISA-IgM. In caso di positività i campioni devono essere inviati al CESME, al più presto (entro e non oltre 2 giorni lavorativi). Il CESME effettua gli esami entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione e trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla Regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute.

Qualora si abbiano casi confermati di WND e Usutu in soggetti di **allevamenti avicoli rurali** o **all'aperto**, oppure in **animali sentinella delle specie aviarie**, il servizio veterinario dell'ASL, ricevuta la comunicazione della conferma di positività, in accordo con il proprietario provvede ad abbattere ed inviare le carcasse degli animali positivi accompagnati dalla scheda W01, all'IZS competente per territorio. Il personale dell'IZS esegue gli esami anatomo-patologici su tutti i soggetti pervenuti ed esamina il cuore, cervello, rene e milza di ciascun animale mediante i test RT-PCR per verificare la presenza di WNV e USUV. I campioni positivi (porzioni dell'organo, omogenato, RNA) sono inviati, contestualmente a copia della scheda W01 (vedi le indicazioni contenute nel capitolo 11 del presente documento), al più presto (entro e non oltre 2 giorni

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 25 di 40

lavorativi) al CESME per la conferma. Il CESME effettua gli esami di conferma e trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla Regione territorialmente competente entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute. Il servizio veterinario dell'ASL effettua inoltre un campionamento entomologico analogamente a quanto descritto nel paragrafo precedente per i casi confermati negli equidi.

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

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

- avviare tempestivamente le attività di sorveglianza e controllo della malattia nell'uomo in tutto il territorio provinciale e regionale;
- potenziare l'informazione affinché le persone che vivono o lavorano nell'area provinciale interessata adottino le misure più idonee a ridurre il rischio di essere punte (vedi §10.2 *"Raccomandazioni generali alla popolazione per la prevenzione delle punture di insetti"*);
- attivare le misure nei confronti delle donazioni di sangue ed emocomponenti, organi e tessuti (vedi § *10.4 "Misure nei confronti delle donazioni di sangue ed emocomponenti, organi e tessuti per WNV").*

In questi casi la Regione interessata valuta l'opportunità di attivare il monitoraggio e controllo dei vettori che andrà eseguito seguendo le indicazioni del successivo paragrafo § 10.3 "*Lotta agli insetti vettori*".
Si ribadisce quindi 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 nell'uomo e i Servizi veterinari delle aziende sanitarie locali competenti per territorio (Ordinanza del Ministro della salute 4 agosto 2011 e successiva proroga con Ordinanza 7 dicembre 2016).

Resto del territorio

Qualora i casi confermati, siano essi nell'ambito della sorveglianza umana che nell'ambito di quella veterinaria e dunque qualunque sia la specie coinvolta, riguardino località al di fuori delle aree endemiche (Figura 1), e facciano supporre la possibile circolazione del virus in tali territori, i servizi sanitari competenti per la sorveglianza umana e veterinaria dell'ASL competente per territorio dovranno svolgere di concerto una serie di attività per controllare la diffusione della malattia:

- svolgere una accurata indagine epidemiologica per comprendere il/i potenziale/i luogo/hi di esposizione,
- una volta identificata l'area di potenziale esposizione, sottoporre a sorveglianza entomologica l'azienda o il sito interessato utilizzando trappole del tipo CO_2-CDC, Gravid traps, BG-Sentinel e direttamente con aspiratori al fine di individuare le specie di zanzare coinvolte ed eventualmente la prevalenza dell'infezione nei vettori. Il protocollo di campionamento entomologico (metodi di cattura, frequenza e durata) è stabilito di volta in volta tra l'IZS competente per territorio e il CESME,

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 26 di 40

- nell'eventualità di casi confermati di WND, sottoporre a prelievo ematico un campione di equidi stanziali non vaccinati nei confronti del WNV, presenti nel raggio di 4 km dall'allevamento con i casi confermati. Il campione di animali da prelevare è calcolato sulla base della Tabella 3. I campioni di sangue sono inviati all'IZS competente per territorio con la relativa scheda W03 – Motivo del prelievo [B]: "controllo a campione su equidi stanziali presenti nelle aziende a 4 Km rispetto al focolaio". L'IZS competente per territorio provvederà ad effettuare la prova di ELISA-IgM. In caso di positività i campioni devono essere inviati al CESME il più presto possibile (entro e non oltre 2 giorni lavorativi). Il CESME effettua gli esami e trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla Regione territorialmente competente entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della Salute.

Nel caso di positività al test ELISA, confermata dal saggio di sieroneutralizzazione effettuato dal CESME, in bovini e ovi-caprini prelevati come sentinelle nell'ambito del piano di sorveglianza sierologica della bluetongue o in altre specie animali, o nell'uomo, se in territori al di fuori delle aree endemiche (Figura 1), il Ministero della Salute, di concerto con il CESME, l'ISS e il servizio veterinario della Regione interessata, potrà disporre ulteriori e specifiche indagini al fine di stabilire l'origine e l'estensione dell'infezione riscontrata (vedi sopra).

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

10.1 Informazione nei confronti di persone esposte a rischio documentato di trasmissione di WNV e di USUV

Nei territori nei quali viene evidenziata circolazione virale o dove è stata dimostrata la presenza di zanzare infette, va potenziata l'informazione affinché le persone che vi vivono o lavorano in quei territori adottino le misure più idonee a ridurre il rischio di essere punte (vedi §10.2 *"Raccomandazioni generali alla popolazione per la prevenzione delle punture di insetti"*) e per permettere una diagnosi tempestiva di eventuali casi clinici. L'informazione deve raggiungere, direttamente o attraverso i medici di medicina generale (MMG), i pediatri di libera scelta (PLS), gli specialisti, le Associazioni dei malati, ecc., in particolare le persone a rischio più elevato di sviluppare la malattia neuro invasiva quali gli anziani e gli immunodepressi.

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

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

- all'aperto, utilizzare con moderazione repellenti cutanei per uso topico; è necessario, comunque, attenersi scrupolosamente alle norme indicate sui foglietti illustrativi dei prodotti repellenti, non utilizzarli sulle mucose o su regioni cutanee in presenza di lesioni e porre particolare attenzione al loro impiego sui bambini e donne in gravidanza e in allattamento;

- all'aperto, dal crepuscolo in poi, indossare indumenti di colore chiaro che coprano la maggior parte del corpo (camicie a maniche lunghe, pantaloni o gonne lunghi e calze);
- alloggiare in stanze dotate di impianto di condizionamento d'aria o, in mancanza di questo, di zanzariere alle finestre ed alle porte d'ingresso avendo cura di controllare che queste siano integre e ben chiuse;
- nel solo caso di presenza di zanzare in ambienti interni, 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.

10.3 Lotta agli insetti vettori

Il vettore principale di WNV e USUV, la zanzara *Culex pipiens*, è molto comune e ubiquitario in Italia ed ha un ciclo biologico di 15-20 gg in estate. È una specie ad attività crepuscolare/notturna, che punge sia all'aperto che all'interno dei locali, dove poi riposa e digerisce il pasto di sangue. Il controllo della specie segue schemi diversi, a seconda che l'intervento sia condotto nell'ambito delle attività di prevenzione o in caso di emergenza, sia in centri abitati che in aree rurali.

Gli interventi di prevenzione sono basati sulla ricerca e rimozione dei focolai di sviluppo delle larve, sulla bonifica ambientale e sull'uso di prodotti larvicidi nei focolai non rimovibili o bonificabili. In linea di massima l'intervento in ambiente urbano può seguire lo schema generale da sempre utilizzato per il controllo di questa specie indigena e ubiquitaria nel nostro paese (larvicidi, e ove richiesto, adulticidi abbattenti), mentre in aree rurali, l'intervento deve essere volto contro le forme larvali della specie.

In presenza di circolazione virale (quindi in situazione di emergenza), devono essere condotti interventi adulticidi che prevedano prodotti insetticidi ad azione residua. Come noto, *Cx. pipiens* non si infetta pungendo un essere umano o un cavallo portatori del virus, mentre può trasmettere loro il patogeno dopo averlo acquisito da un uccello, serbatoio naturale, che sviluppa un livello di viremia più elevato e di durata maggiore. Ne consegue che lo scopo principale degli interventi di controllo con insetticidi, in presenza di casi umani, è di ridurre rapidamente e drasticamente la densità della popolazione del vettore già presente, e quindi la percentuale di zanzare già infette o che potrebbero infettarsi su uccelli viremici presenti nell'area, mediante l'uso *in primis* di adulticidi. Per impedire poi l'ulteriore sfarfallamento di nuove generazioni di zanzare, ancora non infette (infatti per il momento la trasmissione verticale del virus dalla femmina infetta alla progenie non è considerata una via frequente di diffusione in natura) dovranno comunque essere effettuati interventi larvicidi.

I protocolli da seguire per il controllo di *Cx. pipiens* variano a seconda dall'entità del rischio che si può configurare in una certa area. Infatti la presenza ubiquitaria della specie a quote inferiori a 600 m s.l.m. e la densità elevata che questa zanzara può raggiungere, insieme al possibile verificarsi di casi di malattia da WNV e USUV, delineano, tre situazioni con livelli di rischio diversi:

- **Area di tipo A**: in cui è presente il vettore, in assenza di casi confermati di WND o malattia da USUV; questa tipologia caratterizza oggi la gran parte dei centri abitati del paese.
- **Area di tipo B**: in cui è presente il vettore e dove si verifica un singolo caso umano autoctono di WND o malattia da USUV;

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 27 di 40

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 28 di 40

- **Area di tipo C**: dove in presenza del vettore, sia segnalata l'insorgenza di un focolaio epidemico umano di WND o di malattia da USUV.

Una ulteriore specifica circa queste aree è riportata in Tabella 6 e nell'Allegato 4**.**

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

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

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

Ulteriori specifiche sulle modalità degli interventi di controllo, sia in zona rurale che più densamente abitata, sono riportate in Allegato 4. In allegato 4 sono inoltre descritti gli interventi da effettuare in caso di positività in pool di zanzare infette o in presenza di animale infetto.

Le Regioni e le PP.AA. possono modificare i protocolli operativi in base ad evidenze scientifiche e tenendo conto dei risultati ottenuti precedentemente, dandone comunicazione al Ministero della Salute, all'ISS e al CESME.

10.4 Misure nei confronti delle donazioni di sangue ed emocomponenti, organi e tessuti per WNV

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

Al fine di garantire la tempestiva introduzione delle misure di prevenzione della trasmissione trasfusionale del WNV, i riscontri derivanti dalle sorveglianze entomologica e veterinaria come precedentemente descritte

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 29 di 40

(insetti vettori, avifauna stanziale appartenente a specie bersaglio, animali sentinella), confermati positivi dal CESME, sono comunicati attraverso i rapporti di prova anche al Centro Nazionale Sangue. Tale flusso informativo è stato adottato nella scorsa stagione estivo-autunnale. Nel periodo di attività vettoriale, il Centro Nazionale Sangue ed il Centro Nazionale Trapianti eseguono il costante monitoraggio delle notifiche dei casi umani di WNVD 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 e tessuti risultati positivi allo screening NAT, effettuato sulle rispettive donazioni, 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

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

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 ed epidemiologiche, deve segnalarlo alla Azienda sanitaria locale entro 12 ore ed inviare i campioni per la diagnosi di laboratorio:

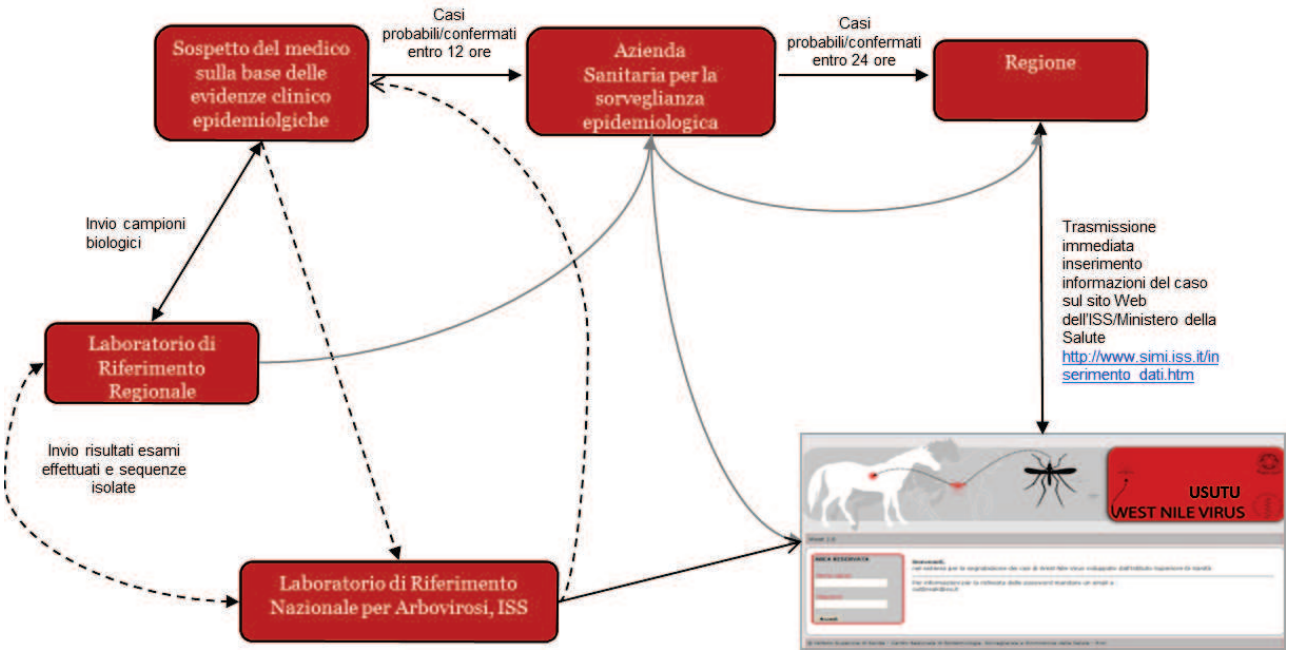
- al laboratorio di riferimento regionale, ove identificato (vedi Allegato 3) o, in assenza, a un laboratorio di riferimento di un'altra regione, con cui esista una convenzione;
- e/o all'Istituto Superiore di Sanità - laboratorio di riferimento nazionale (tel. 06 49903205/2663, fax 06 49902813; e-mail: 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 locale che si occupa della sorveglianza epidemiologica invia la segnalazione, accompagnata da scheda epidemiologica allegata (Allegato 2), entro 24 ore, alla Regione/P.A. e da questa immediatamente inviata tramite inserimento sul sito web http://www.simi.iss.it/inserimento_dati.htm . 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: outbreak@iss.it).

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

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

Di seguito è riportato lo schema di segnalazione dei casi di malattia neuro-invasiva da 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 a 30 giorni e va, di conseguenza, aggiornata la scheda di segnalazione del caso all'interno del sito web sopra riportato.

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

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

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

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

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

c. Sorveglianza su uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio

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

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 31 di 40

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

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

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

Il Servizio Veterinario dell'ASL preleva, secondo le modalità descritte nel capitolo 6 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.

f. Insetti

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

g. Flussi dati – sorveglianza veterinaria

Gli Istituti Zooprofilattici Sperimentali devono registrare con cadenza settimanale tutti i dati degli esami effettuati sui campioni del territorio di loro competenza, ai sensi del presente provvedimento, nel sistema informativo nazionale per la WND, secondo le modalità tecniche definite dal CESME.

Al fine di garantire un corretto flusso delle informazioni e limitatamente alle attività relative alla WND, 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 sul Sistema Informativo Nazionale Malattie Animali (SIMAN) 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 in SIMAN della sede di esecuzione dell'accertamento (CESME o IZS territorialmente competente) permetterà di distinguere gli esiti degli accertamenti di conferma da quelli di prima istanza. Tale flusso deve essere garantito per tutti i dati inerenti al Piano nazionale integrato di sorveglianza e risposta al virus West Nile e ad eventuali Piani regionali.

Gli esiti dei test di conferma relativi all'USUV saranno registrati sul SIMAN dal CESME.

Il Servizio Veterinario dell'ASL deve registrare nel SIMAN puntualmente, e comunque entro 2 giorni lavorativi i casi confermati di WND di avicoli, uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio, uccelli selvatici, e pool di zanzare. I casi di WND confermati negli equidi devono essere registrati in SIMAN entro un (1) giorno lavorativo. La definizione di casi probabili e confermati è stabilita nel capitolo 9 del presente documento. La data del sospetto deve corrispondere alla data del prelievo e la data di conferma deve corrispondere alla data di emissione del rapporto di prova del CESME. La chiusura dei focolai confermati di WND deve avvenire entro la fine di febbraio dell'anno successivo al riscontro della positività.

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

Per l'identificazione tempestiva della circolazione virale utile alla definizione delle aree affette e alle conseguenti attività di sorveglianza, è necessario che le positività riscontrate nell'ambito della sorveglianza veterinaria, entomologica ed umana vengano condivise attraverso una piattaforma comune, con accesso

protetto, per la consultazione in tempo reale dei dati relativi alla sorveglianza umana, entomologica e veterinaria tra il Ministero della Salute, l'ISS, il CESME dell'IZSAM, ai fini della predisposizione di un unico bollettino integrato, che contenga i risultati della sorveglianza integrata. I risultati delle attività di sorveglianza integrata umana, entomologica e veterinaria della malattia da virus West Nile e della malattia da virus Usutu, saranno quindi pubblicati settimanalmente su un bollettino redatto in collaborazione tra Ministero della Salute, ISS e CESME dell'IZSAM che verrà diffuso sui rispettivi siti istituzionali.

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

IL DIRETTORE GENERALE DGPREV
*F.to Dott. RANIERO GUERRA

IL DIRETTORE GENERALE DGISAN
*F.to Dott. SILVIO BORRELLO

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

Il Direttore dell'Ufficio III
*F.to Dott. Pier Davide Lecchini

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

Referente del procedimento
Olivia Bessi – 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"

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 32 di 40

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 33 di 40

Tabella 1. Numero di zone[4](1200-1600 Km^2) nelle aree endemiche

Regione/Provincia	Superficie totale (Km^2)	Numero di aree
Lombardia	**23.863,65**	**10,5**
Cremona	1.770,46	1
Mantova	2.341,44	1,5
Lodi	782,99	0,5
Brescia	4.785,62	3
Pavia	2.968,64	1,5
Milano	1.575,65	1
Bergamo	2.745,94	1,5
Monza e della Brianza	405,41	0,5
Veneto	**18.407,42**	**7,5**
Verona	3.096,39	2
Treviso	2.479,83	1,5
Venezia	2.472,91	1,5
Padova	2.144,15	1,5
Rovigo	1.819,35	1
Vicenza	2.722,53	1,5
Friuli-Venezia Giulia	**7.862,30**	**3,25**
Udine	4.907,24	1,5
Gorizia	467,14	0,25
Trieste	212,51	0
Pordenone	2.275,42	1,5
Emilia-Romagna	**22.452,78**	**8**
Piacenza	2.585,86	0,5
Parma	3.447,48	1
Reggio nell'Emilia	2.291,26	0,5
Modena	2.688,02	1
Bologna	3.702,32	1
Ferrara	2.635,12	1,5
Ravenna	1.859,44	1
Forlì-Cesena	2.378,40	1
Rimini	864,88	0,5
Sicilia	**25.832,39**	**15**
Trapani	2.469,62	1,5
Palermo	5.009,28	3
Messina	3.266,12	2
Agrigento	3.052,59	2
Caltanissetta	2.138,37	1
Enna	2.574,70	1,5
Catania	3.573,68	2
Ragusa	1.623,89	1
Siracusa	2.124,13	1

[4] Se nel territorio di una Provincia il numero di aree è pari a 0,5, il numero di unità campionarie previste dal presente documento nell'ambito delle diverse azioni di sorveglianza dovrà essere ridotto alla metà (esempio: numero di siti di cattura entomologica – 2, numero di siti effettivi di cattura da attivare sul territorio della Provincia - 1), se il numero di aree nella Provincia è pari a 1,5, il numero di unità campionarie previste dovrà essere aumentato della metà (numero di siti di cattura entomologica – 2, numero di siti effettivi di cattura da attivare sul territorio della provincia - 3).

Regione/Provincia	Superficie totale (Km^2)	Numero di aree
Sardegna	**24.100,02**	**14,5**
Sassari	4.285,91	2,5
Nuoro	3.931,68	2,5
Cagliari	4.570,41	2,5
Oristano	3.034,25	2
Olbia-Tempio	3.406,18	2
Ogliastra	1.854,55	1
Medio Campidano	1.517,34	1
Carbonia-Iglesias	1.499,71	1
Piemonte	**25.387,07**	**16**
Torino	6.827,00	4
Vercelli	2.081,64	1,5
Novara	1.340,28	1
Cuneo	6.894,94	4,5
Asti	1.510,19	1
Alessandria	3.558,83	2
Biella	913,28	0,5
Verbano-Cusio-Ossola	2.260,91	1,5

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 34 di 40

Tabella 2. Numero di allevamenti da campionare per la ricerca del WNV e dell'USUV.

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

Tabella 3. Numero di capi da sottoporre a prelievo per la ricerca del WNV e dell'USUV.

Popolazione[5]	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

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

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

Regione/Provincia	Cavalli (IgM)
Valle d'Aosta/Vallée d'Aoste	**74**
Valle d'Aosta/Vallée d'Aoste	74
Lombardia	**146**
Varese	27
Como	29
Sondrio	72
Lecco	18
Trentino-Alto Adige/Südtirol	**307**
Bolzano/Bozen	167
Trento	140
Veneto	**83**
Belluno	83
Liguria	**122**
Imperia	26
Savona	35
Genova	41
La Spezia	20
Toscana	**518**
Massa-Carrara	26
Lucca	40
Pistoia	22
Firenze	79
Livorno	27
Pisa	55
Arezzo	73
Siena	86
Grosseto	102
Prato	8
Umbria	**191**
Perugia	143
Terni	48
Marche	**212**
Pesaro e Urbino	58
Ancona	44
Macerata	63
Ascoli Piceno	28
Fermo	19
Lazio	**388**
Viterbo	81
Rieti	62
Roma	121
Latina	51
Frosinone	73
Abruzzo	**245**
L'Aquila	114

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 36 di 40

Regione/Provincia	Cavalli (IgM)
Teramo	44
Pescara	28
Chieti	59
Molise	**101**
Campobasso	66
Isernia	35
Campania	**309**
Caserta	60
Benevento	47
Napoli	27
Avellino	63
Salerno	112
Puglia	**441**
Foggia	158
Bari	87
Taranto	56
Brindisi	42
Lecce	63
Barletta-Andria-Trani	35
Basilicata	**227**
Potenza	149
Matera	78
Calabria	**342**
Cosenza	151
Catanzaro	54
Reggio di Calabria	72
Crotone	39
Vibo Valentia	26

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 37 di 40

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

Regione/Provincia	Sentinelle BT
Valle d'Aosta/Vallée d'Aoste	**37**
Valle d'Aosta/Vallée d'Aoste	37
Lombardia	**73**
Varese	14
Como	14
Sondrio	36
Lecco	9
Trentino-Alto Adige/Südtirol	**153**
Bolzano/Bozen	83
Trento	70
Veneto	**41**
Belluno	41
Liguria	**61**
Imperia	13
Savona	17
Genova	21
La Spezia	10
Toscana	**260**
Massa-Carrara	13
Lucca	20
Pistoia	11
Firenze	40
Livorno	14
Pisa	28
Arezzo	36
Siena	43
Grosseto	51
Prato	4
Umbria	**95**
Perugia	71
Terni	24
Marche	**106**
Pesaro e Urbino	29
Ancona	22
Macerata	31
Ascoli Piceno	14
Fermo	10
Lazio	**194**
Viterbo	41
Rieti	31
Roma	60
Latina	25
Frosinone	37
Abruzzo	**122**
L'Aquila	57

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 38 di 40

Regione/Provincia	Sentinelle BT
Teramo	22
Pescara	14
Chieti	29
Molise	**50**
Campobasso	33
Isernia	17
Campania	**154**
Caserta	30
Benevento	23
Napoli	13
Avellino	32
Salerno	56
Puglia	**221**
Foggia	79
Bari	44
Taranto	28
Brindisi	21
Lecce	32
Barletta-Andria-Trani	17
Basilicata	**113**
Potenza	74
Matera	39
Calabria	**172**
Cosenza	76
Catanzaro	27
Reggio di Calabria	36
Crotone	20
Vibo Valentia	13

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 39 di 40

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 40 di 40

Tabella 6. Schema riassuntivo delle attività di monitoraggio e controllo di *Culex pipiens* da effettuarsi nel caso di infezioni umane da WNV o USUV.

Periodo dell'anno	Area di tipo A	Area di tipo B	Area di tipo C
	Area in cui è presente il vettore, in assenza di casi di WN o USUTU	**Area in cui si verifica un singolo caso umano di WN o USUTU contratto con certezza nell'area di residenza (anamnesi)**	**Area dove sono segnalati focolai epidemici di WN o USUTU**
da dicembre a marzo	Nessuna attività	Nessuna attività	
da aprile a maggio e novembre		In presenza di casi umani e di un andamento climatico stagionale favorevole vanno comunque attivate le attività riportate di seguito per le aree di tipo B e C:	
Da giugno a ottobre	• Il monitoraggio ed i trattamenti possono attenersi ai protocolli, ove già esistenti, seguendo la normativa regionale o nazionale • Vanno comunque condotte regolarmente le attività di prevenzione mediante educazione sanitaria, per la riduzione dei focolai larvali, interventi ordinari di controllo con prodotti larvicidi, nei focolai non rimovibili riservando l'uso di adulticidi a situazioni di elevata densità del vettore.	• Intervento sul suolo privato e pubblico, all'interno di un'area compresa entro 200 metri di raggio intorno all'abitazione del caso in aree densamente popolate (area di tipo B1), oppure in zona rurale (area di tipo B2) intorno all'abitazione del soggetto, per un'estensione di territorio a discrezione dell'Autorità Sanitaria e degli operatori locali. • Trattamento spaziale adulticida (1 ciclo), con prodotti abbattenti • Ricerca e rimozione di focolai larvali domestici e peri-domestici • Trattamento dei focolai larvali non rimovibili con prodotti larvicidi • Attivazione o potenziamento del monitoraggio nelle immediate vicinanze dell'abitazione del caso, per almeno due settimane dalla segnalazione • Informazione agli abitanti sulle misure da adottare per prevenire il contatto col vettore • Follow-up dell'area limitato alle due settimane seguenti l'allerta	• Interventi sul suolo privato e pubblico, all'interno dell'area interessata dal focolaio e per un raggio di 200 metri oltre le abitazioni più esterne dell'area stessa • Trattamenti adulticidi (1° ciclo): -Spaziale, con prodotti abbattenti - Murale esterno con prodotti ad azione residua di ambienti abitati semicoperti* e interno in locali di sevizio accessibili alle zanzare • Ricerca e rimozione di focolai larvali domestici e peri-domestici**. Trattamento dei focolai larvali non rimovibili con prodotti larvicidi • Informazione agli abitanti sulle misure da adottare per prevenire il contatto col vettore • Replica del solo intervento larvicida in caso di pioggia o di quello abbattente qualora il monitoraggio indicasse una scarsa efficacia del primo ciclo • Attivazione o potenziamento del monitoraggio nell'area interessata dal focolaio, per tutta la durata della stagione • Ripetere il trattamento spaziale dopo la prima (2°) e la seconda settimana (3°), poi seguendo le indicazioni del monitoraggio • Follow-up previsto per tutta la stagione a rischio

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

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

Allegato 1. Definizioni di caso

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 1 di 40

	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.
Criterio epidemiologico	Almeno una delle seguenti due correlazioni epidemiologiche: – trasmissione da animale a uomo (che risieda o abbia viaggiato in zone in cui il WNV è endemico nei cavalli o negli uccelli o che sia stato esposto a punture di zanzare in tali zone); – trasmissione interumana (trasmissione verticale, trasfusione sanguigna, trapianti).	Almeno la seguente correlazione epidemiologica: – trasmissione da animale a uomo (che risieda o abbia viaggiato in zone in cui il USUV è endemico negli uccelli o che sia stato esposto a punture di zanzare in tali zone);
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 il criterio clinico e/o almeno uno dei criteri di laboratorio per caso confermato	Persona che soddisfa il criterio clinico e/o 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 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.

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 2 di 40

Scheda di segnalazione di caso di West Nile Virus/Usutu virus

IMPORTATO □ AUTOCTONO □ - PROBABILE □ CONFERMATO □

1. Regione _____ **2. Azienda Sanitaria/Ospedale**_____

3. Servizio / Reparto _____

4. Dati relativi al paziente:
Cognome: _____ Nome: _____
Sesso: M □ F □ Codice Fiscale |___|___|___|___|___|___|___|___|___|___|___|___|___|___|___|___|___|___|___|___|
Luogo di nascita: _____ Data di nascita |___|___|_____|(gg/mm/aaaa)
Domicilio abituale*: _____ ____ _____
Via/piazza e numero civico Comune Provincia

5. Storia di viaggi nelle tre settimane precedenti l'inizio della sintomatologia:
a. _____ _____ _____
b. _____ _____ _____
Nazione/Città data inizio data fine

6. Anamnesi positiva per <u>trasfusione</u> di sangue o emocomponenti nei 28 giorni precedenti la diagnosi/segnalazione?
□ S □ N □ Non noto

6bis. Anamnesi positiva per <u>donazione</u> di sangue o emocomponenti nei 28 giorni precedenti la diagnosi/segnalazione?
□ S □ N □ Non noto

7. Vaccinazione nei confronti di altri flavirus:
Tick borne encephalitis □ S □ N □ Non noto; Febbre Gialla □ S □ N □ Non noto; Encefalite Giapponese □ S □ N □ Non noto

8. Informazioni cliniche:
Febbre > 38.5°C □ S □ N □ Non noto; Se sì, data inizio febbre |___|___|_____| (gg/mm/aaaa)
Manifestazione clinica:
□ Encefalite □ Meningite a liquor limpido □ Poliradiculoneurite (Sindrome di Guillain Barrè atipica) □ Paralisi flaccida acuta
□Altro (specificare) _____

9.Presenza di condizioni di rischio preesistenti: □ S □ N
se si, specificare _____

10.Esami di Laboratorio:

□ <u>Liquor</u> data prelievo: |___|___|_____| (gg/mm/aaaa)
Metodica [è possibile indicare più di una risposta]:
□ IgM: Titolo _____ □ pos □ neg □ dubbio □ PCR □ pos □ neg □ dubbio
□ IgG: Titolo _____ □ pos □ neg □ dubbio □ Isolamento virale □ pos □ neg

□ <u>Siero/Sangue</u>, data prelievo: |___|___|_____| (gg/mm/aaaa)
Metodica [è possibile indicare più di una risposta]:
□ IgM Titolo _____ □ pos □ neg □ dubbio □ PCR □ pos □ neg □ dubbio
□ IgG Titolo _____ □ pos □ neg □ dubbio □ Isolamento virale □ pos □ neg
□ Neutralizzazione Titolo_____ □ pos □ neg □ dubbio

□ <u>Urine</u>, data prelievo: |___|___|_____| (gg/mm/aaaa)
□ PCR □ pos □ neg □ dubbio

Per WNV se effettuato il sequenziamento inserire il Lineage: □ Lineage 1 □ Lineage 2

Note:_____

11. Esito del caso al momento della segnalazione:
□ Guarito □ Quadro clinico in via di miglioramento □ Quadro clinico grave □ Deceduto □ Non noto

12. Esito del caso al follow-up [30 giorni]:
□ Guarito □ Quadro clinico in via di miglioramento □ Quadro clinico grave □ Deceduto □ Non noto

Data segnalazione |___|___|_____| Medico compilatore _____
telefono _____ telefax _____ e-mail _____

* indicare il domicilio abituale del caso nelle 3 settimane precedenti l'inizio della sintomatologia

Da inserire entro 12 ore dalla segnalazione sul sito web: http://www.simi.iss.it/inserimento_dati.htm oppure solo nel caso in cui non sia possibile l'invio tramite il sito web (esempio: mancanza di accesso ad internet o non disponibili delle credenziali di accesso al sito) sarà possibile inviare via fax o email sia al Ministero della Salute (fax: 06 59943096 e-mail: malinf@sanita.it) che all'ISS (fax: 06 49902476 outbreak@iss.it)

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 3 di 40

Allegato 3

ELENCO LABORATORI REGIONALI DI RIFERIMENTO PER LE 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:
UCO Igiene e Medicina Preventiva, Dipartimento di Scienze Mediche, Chirurgiche e della Salute, Università di Trieste
Via dell'Istria, 65/1
34137 TRIESTE
Email: dagaro@burlo.trieste.it
Tel: 040773433; 0403785209/845
Fax: 0407600324
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
e-mail: 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
Email:
Tel: 0706092224
Fax: 0706092516
Referente: Dott. Ferdinando Coghe

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 4 di 40

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
Tel:
Fax:
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
Fax:
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

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

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 5 di 40

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 6 di 40

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

1) Responsabilità

La Regione e le ASL competenti per il territorio, sono responsabili della valutazione e gestione locale del rischio sanitario. La programmazione, l'esecuzione e la valutazione degli interventi di controllo dei potenziali vettori vanno disposti, se ritenuti necessari, 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, qualora disponibili sul territorio, e dei Comuni ai quali è demandata l'attività di controllo del vettore. Pertanto, piani di sorveglianza e d'intervento straordinari vanno implementati e affiancati al più presto, in quelle regioni che non abbiano preventivamente provveduto a quanto già previsto dal protocollo del Piano nazionale integrato di sorveglianza e risposta ai virus West Nile e USUV al fine di identificare le responsabilità delle diverse azioni da intraprendere e le strutture di riferimento idonee a svolgerle.

2) Attivazione della procedura d'indagine

La procedura d'indagine deve essere attivata da una struttura, rappresentata dall'autorità sanitaria competente, idonea a lanciare l'allarme sia su base clinica che diagnostica in presenza di casi accertati di WND o USUV, sia umani che animali, sia in caso di ragionevole sospetto.

3) Definizione dell'area d'indagine

Sebbene sia molto difficile stabilire in assoluto la distanza che una zanzara può percorrere in volo attivo (comportamento dipendente sia da fattori genetici che ambientali), è possibile affermare che le femmine di *Culex pipiens*, adattate a vivere in ambienti frequentati dall'uomo e dagli animali domestici, non sono in generale grandi volatrici, non spostandosi molto dal focolaio larvale d'origine, né dalla fonte del pasto di sangue, sempre disponibile. I maschi della specie, hanno un raggio di volo ancora più limitato, tanto che il loro rinvenimento in una cattura è indice della prossimità del focolaio di sviluppo larvale. Per tali presupposti, in caso di circolazione virale, l'area d'indagine viene limitata ad una superficie di circa 200 metri di raggio, intorno all'abitazione del caso di WND o di USUV. Questa area di circa 12,5 ettari, corrisponde ad un quadrato di circa 350 metri di lato.

4) Sopralluogo

La procedura d'indagine relativa al caso segnalato (umano o animale), prosegue con un tempestivo sopralluogo, che dovrà valutare la presenza del vettore e l'eventuale necessità di un intervento di controllo. Se venga ritenuto necessario eseguire tale intervento, si dovrà valutare l'effettiva area da trattare e gli eventuali target specifici (vedi punto 5), che dipenderanno dalla collocazione e dalla tipologia abitativa dell'area stessa. Durante il sopralluogo saranno considerati anche gli eventuali ostacoli che potrebbero rallentare l'intervento stesso; in questo caso dovrà essere valutata la possibilità di richiedere l'ausilio della Polizia Municipale per risolvere problemi di circolazione o accesso all'area segnalata. Nel caso in cui fosse già attivo un sistema di monitoraggio nell'area interessata, si procederà ad acquisire il dato delle trappole, alla rimozione delle stesse prima di effettuare gli interventi adulticidi e al loro riposizionamento al termine delle operazioni di controllo. In assenza di tale sistema, si potrà procedere direttamente all'intervento di controllo e successivamente al posizionamento delle stazioni di monitoraggio.

5) Obiettivi e modalità degli interventi di controllo

*(Per gli aspetti generali sul vettore, sulle aree d'interesse e sul controllo vedi prima il **paragrafo 10.3** del corpo principale della Circolare, mentre per le procedure specifiche degli interventi vedi **punti 8 e 9** di questo Allegato).*

In presenza di circolazione virale, è di cruciale importanza intervenire con tempestività e competenza nei primi giorni dalla segnalazione del caso. Gli interventi descritti dai protocolli operativi che seguono, hanno lo scopo di isolare e circoscrivere l'area dove si sono verificati uno o più casi umani di WND o di USUV e di ridurre drasticamente e rapidamente la densità dell'insetto vettore, per impedire che zanzare

già infette possano infettare altri soggetti sani o spostarsi in aree limitrofe. Va precisato che la decisione di intervenire con adulticidi è demandata alla competente Autorità Sanitaria, secondo il protocollo previsto dai relativi Piani Regionali.

Gli interventi possono essere distinti in:

5.1. Intervento di controllo straordinario o di emergenza (in presenza di caso umano) prevede l'uso di insetticidi adulticidi e larvicidi (vedi protocolli specifici), in presenza di casi autoctoni di WND o di USUV sull'uomo, sia nella forma neuro-invasiva che semplicemente febbrile, attraverso due fasi distinte:

a) la prima, consiste nella disinfestazione in tempi brevi dell'area interessata tramite interventi adulticidi mirati alle strutture e agli ambienti identificati durante il sopralluogo, con le modalità più idonee.
b) la seconda, condotta nei giorni successivi ai trattamenti adulticidi, prevede: trattamenti larvicidi di tutte le raccolte d'acqua non rimovibili su suolo pubblico per ridurre il potenziale della popolazione del vettore; ispezioni "porta a porta" di tutte le abitazioni private comprese nell'area d'indagine per la ricerca e l'eliminazione dei focolai larvali peri-domestici e in caso di trattamento di quelli inamovibili.

A completamento dell'intervento straordinario, vanno comunque proseguite e potenziate le attività di routine, quali l'informazione della cittadinanza, il monitoraggio del vettore e i sopralluoghi su suolo pubblico.

5.2. Intervento di controllo ordinario, prevede solo l'impiego di larvicidi (vedi punto 5.1, schema b) e può essere effettuata anche nei casi di WND equina.

6) Mappatura dell'area d'indagine

L'area d'indagine deve essere subito definita e riportata su supporto cartaceo o elettronico, tanto più rapidamente quanto più questa è vasta. L'ideale è l'impiego di cartografia elettronica, gestibile con un sistema informativo di georeferenziazione (GIS), che consenta la suddivisione del territorio in settori operativi, di ampiezza variabile a seconda delle necessità. In alternativa si può ricorrere all'uso di carte molto dettagliate, come quelle catastali (1:10.000-1:25.000). Sulla medesima carta va anche riportato il numero e la localizzazione, di tutti i possibili focolai larvali, interni all'area interessata, nonché quello delle trappole del sistema di monitoraggio.

7) Il sistema di monitoraggio.

Qualora si dovessero verificare casi di WND o USUV in aree dove non sia ancora attivo un sistema di monitoraggio di *Cx. pipiens*, questo andrebbe messo in opera in tempi brevi, subito dopo il primo intervento. L'unità di base del monitoraggio (stazione di rilevamento) in situazioni d'emergenza è costituita da due trappole per adulti. Il numero di stazioni può essere aumentato a seconda del numero di abitazioni e della tipologia abitativa dell'area stessa, comunque non al di sotto di una stazione per una superficie di 200 m di raggio intorno al singolo caso di WND o di USUV. Le trappole per adulti possono fare riferimento al modello commerciale tipico cosiddetto CDC, innescate ad anidride carbonica (CO_2) o modelli simili. In mancanza di queste si può ricorrere alla trappola modello BG Sentinel®, attivata con CO_2. Le trappole vanno lasciate in funzione dal crepuscolo al primo mattino. I risultati del monitoraggio serviranno sia ad indirizzare gli interventi successivi al primo, sia a valutarne l'efficacia (il sistema di valutazione si basa sul confronto del numero di zanzare catturate dalla stessa trappola e nella stessa posizione il giorno precedente e quello seguente il trattamento). Al monitoraggio degli adulti va affiancato quello delle forme preimaginali nei focolai non rimovibili, presenti principalmente sul suolo pubblico, da eseguirsi a intervalli prestabiliti a seconda della necessità e dei prodotti utilizzati. Il sistema può inoltre essere integrato con trappole (es. gravid trap) mirate alla ricerca dell'agente patogeno nel vettore.
Il monitoraggio e il "follow-up" di un'area interessata da un singolo caso autoctono di WND o di USUV può essere sospeso dopo 2 settimane, mentre l'area interessata da un focolaio epidemico sarà invece monitorata con cadenza settimanale per tutto il resto della stagione a rischio (almeno fino alla fine di ottobre), salvo diverse

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 7 di 40

indicazioni da parte del sistema di monitoraggio (dovute ad esempio al prolungarsi di condizioni climatiche/meteorologiche particolarmente favorevoli ai vettori), mentre le ispezioni delle proprietà private potranno essere condotte ogni due settimane.

8) Esecuzione degli interventi di controllo

Nonostante l'infezione di WNV/USUV non si diffonda con la stessa velocità delle arbovirosi trasmesse dal vettore direttamente da uomo a uomo e ad oggi non ci siano stati esempi di focolai epidemici, le azioni volte ad isolare e circoscrivere un nuovo focolaio devono comunque essere ritenute necessarie e svolte in tempi rapidi. Lo schema tipico dell'intervento di lotta anti-vettoriale, che in condizioni normali prevede tre fasi (pianificazione, esecuzione, verifica), viene qui rappresentato da una serie di azioni contemporanee piuttosto che sequenziali.

È possibile distinguere diversi scenari:

a) Caso umano d'importazione di WND/USUV: nessun tipo di intervento di controllo.

b) Positività al virus di pool di zanzare o animale sentinella: si rimanda a quanto previsto dai singoli protocolli regionali, raccomandando comunque un intervento di tipo ordinario (ricerca 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, ricorrendo anche alle misure atte all'interruzione del possibile contatto vettore-uomo (vedi punto 11) per la protezione dei residenti nell'area stessa.

c) Uno o più casi di malattia equina da WNV: vedi punto b.

d) Singolo caso autoctono umano di WND o di USUV in area urbanizzata (palazzine o agglomerati di più fabbricati ad alta densità abitativa): in seguito ad accertamento, e conseguente segnalazione, da parte dell'Autorità Sanitaria che il soggetto non abbia frequentato aree endemiche nelle ultime due settimane dall'insorgenza dei sintomi, si procede con un intervento di tipo straordinario su tutte le residenze comprese in un raggio di 200 m dall'abitazione del caso. I potenziali target e le relative modalità di trattamento vanno stabilite dagli operatori (vedi punto 9), dopo accurata ispezione del territorio.

e) Singolo caso autoctono umano di WND o di USUV in area rurale o scarsamente urbanizzata (uno o più villini isolati, case a schiera, palazzine): anche in questo contesto, accertato che il soggetto non abbia frequentato aree endemiche per questi virus nelle ultime due settimane, si può procedere con un intervento mirato all'area dell'abitazione e a tutti quei potenziali target posti nelle immediate vicinanze e precedentemente identificati dagli operatori, quali piccole aree verdi, macchie arbustive o fabbricati di servizio (vedi punto 9), che possano dar rifugio alle zanzare adulte.

f) Due o più casi umani di WND o USUV (che definiscono un focolaio d'infezione): in questo caso è d'obbligo procedere con l'intervento straordinario, considerando che l'area interessata va calcolata a partire dalle abitazioni più esterne del cluster di casi, utilizzando, dove possibile, per i trattamenti adulticidi la rete viaria locale e come confine esterno qualcosa che interrompa la continuità dell'area stessa (un corso d'acqua, una zona incolta, dei campi coltivati, un ampio parco pubblico, una strada a grande percorrenza, ecc.).

9) Trattamenti adulticidi: modalità e periodicità degli interventi.

Per il controllo di *Cx. pipiens* potranno essere effettuati due tipi diversi di interventi adulticidi:

9.1) Trattamenti spaziali abbattenti. Lo scopo è quello di ridurre rapidamente e drasticamente l'entità della popolazione del vettore (zanzare già infette o che potrebbero infettarsi su uccelli viremici). È quindi un intervento che richiede una accurata valutazione da parte dell'operatore, che, in caso di un calo non evidente del numero di zanzare, dovrebbe ripetere il trattamento. Tali trattamenti sono da effettuarsi con le dovute cautele, sia in aree urbane che in zone rurali antropizzate, durante le ore notturne, trattandosi di zanzare ad attività crepuscolare e notturna. Tale modalità di esecuzione riduce al minimo l'effetto denaturante della luce solare

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 8 di 40

sugli insetticidi. Verranno utilizzati prodotti a base di piretroidi di prima generazione sinergizzati o miscele di molecole di prima e seconda generazione, veicolate in formulati senza solventi (ad.es. cypermetrina +tetrametrina). 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. Altri interventi dovranno comunque essere effettuati con cadenza settimanale fino al cessato allarme (2 settimane per un singolo caso; per tutta la durata della stagione in caso di evento epidemico). Qualora necessario, ulteriori trattamenti potranno essere effettuati in base all'andamento del dato epidemiologico e alle indicazioni del sistema di monitoraggio.

9.2.) Trattamenti murali di interni e semi-interni. Considerando che *Cx. pipiens* è una zanzara endofila (ovvero che dopo la suzione di sangue digerisce il pasto al coperto), la tipologia dei locali da trattare con insetticidi ad azione residua può risultare molto variabile. In zona rurale vanno trattati gli interni di tutti i fabbricati non abitati ma accessibili alle zanzare (stalle, pollai, ricoveri animali in genere – in assenza degli animali stessi - depositi di attrezzi, fienili, garage). Per quanto riguarda le abitazioni, si tratteranno soltanto le pareti dei locali semi chiusi (terrazze, verande, porticati). Qualora porte e finestre non fossero schermate da zanzariere se ne dovrà consigliare la rapida installazione.

In ambiente urbano i trattamenti murali ad azione residua possono interessare gli eventuali siti di riposo della zanzara all'interno dei fabbricati, come androni, sottoscala, seminterrati, cantine, lunghi ballatoi, box, locali di servizio vari, ma si consiglia di effettuarli solamente dopo accurate ispezioni condotte in loco. I trattamenti murali saranno effettuati con piretroidi ad azione residua communente rinvenibili sul mercato (seconda e terza generazione quali permetrina, deltametrina, cyflutrina, ecc.), tramite pompe a pressione costante, veicolando l'opportuna dose di insetticida in ragione di 1 litro di soluzione per 10 mq (100 mq con pompa da 10 litri) e in esterni, o in locali disabitati, anche con atomizzatori portatili. Qualora l'intervento sia condotto da personale esperto in questo tipo di trattamenti un solo ciclo può essere sufficiente per assicurare la completa copertura dell'area interessata per varie settimane, altrimenti si consiglia di effettuare due cicli di trattamenti a distanza di 7-10 giorni l'uno dall'altro. Qualora necessario, eventuali altri interventi saranno estesi ad aree limitrofe, seguendo le indicazioni del monitoraggio e l'eventuale insorgenza di nuovi casi.

10) Riduzione dei focolai larvali e trattamenti larvicidi: modalità e periodicità degli interventi

Parallelamente all'intervento di disinfestazione, altra azione da condurre subito nelle situazioni di emergenza (casi isolati o focolai di WND o USUV), 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.

Date le peculiari caratteristiche di *Cx. pipiens*, questa indagine va ampliata con la ricerca e la mappatura di eventuali focolai naturali e/o artificiali non rimovibili, presenti in un'area del diametro di almeno 200 metri intorno al sito del primo caso. Dato dunque per scontato che ogni focolaio rimovibile, sia stato comunque rimosso, sia in ambiente peri-domestico che su suolo pubblico, nelle are urbanizzate i trattamenti larvicidi possono seguire lo schema comunemente utilizzato per il controllo delle zanzare, tenendo tuttavia presente che *Cx. pipiens* oltre a condividere gli stessi focolai con *Ae. albopictus* (contenitori di varia natura 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, soprattutto 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 descritti, il trattamento larvicida deve seguire quello adulticida, a cui va data comunque la precedenza. Per il trattamento dei tombini, la scelta preferenziale è per i larvicidi biologici a base di batteri sporigeni, estremamente selettivi, e 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 un po' più lenta, ma rimangono attivi anche per alcune settimane e per questo motivo potrebbero selezionare ceppi resistenti di *Cx. pipiens*

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 9 di 40

- recentemente sono state rese disponibili sul mercato nuove associazioni tra i due batteri che uniscono i pregi dei due prodotti.

Tuttavia, poiché spesso le acque presenti nelle caditoie dei tombini o altri focolai di *Cx. pipiens* presentano un forte carico organico, i prodotti a base di batteri sporigeni potrebbero in alcuni casi risultare poco efficaci, mentre possono risultare molto più utili in un secondo momento, nella fase di mantenimento.

I regolatori della crescita (IGR), quali il piriproxyfen e il methoprene o prodotti analoghi (Diflubenzuron), sono prodotti di sintesi che rappresentano la seconda scelta. Questi prodotti, seppure molto efficaci sulle larve di zanzare, sono considerati poco selettivi e quindi più dannosi per l'ambiente; presentano un'azione relativamente più lenta ma prolungata nei focolai larvali. A causa del loro intrinseco meccanismo d'azione, la valutazione dell'intervento può risultare più complessa.

Al fine di massimizzare l'efficacia del trattamento e facilitarne la sua valutazione, potrà utilizzarsi, qualora ritenuto necessario, un misto di IGR e batteri sporigeni.

Anche la scelta del tipo di formulati da impiegare (pastiglie, granulari o concentrati emulsionabili) 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 (concentrati emulsionabili) o granulari (dove fosse necessario penetrare la vegetazione acquatica), piuttosto che tavolette effervescenti o formulati micro-granulari, più adatti a piccoli focolai non rimovibili di tipo peri-domestico. 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. 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 settimanale).

11) Interruzione del contatto uomo-vettore

*(Per i particolari vedi **Paragrafo 10.4** del corpo principale della Circolare)*

Al fine di evitare di essere punti da una zanzara in zona di circolazione virale (presenza di vettori già infetti), si può ricorrere a misure di protezione individuali, 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 insetto-repellenti per uso topico, da spruzzare o spalmare sulle parti scoperte del corpo. Per quanto riguarda invece le abitazioni, per evitare l'ingesso 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.

12) Valutazione degli interventi di controllo

Per valutare l'intervento adulticida si deve stimare la densità relativa del vettore (T), misurata prima e dopo il trattamento, in base al monitoraggio dell'area trattata, confrontata con i dati raccolti in un'area di controllo (C) non trattata (possibilmente vicina alla prima). È evidente che questo tipo di schema è applicabile al primo intervento di controllo, quello d'urgenza, solamente in quelle aree dove fosse già operante un sistema di sorveglianza in grado di fornire i dati pre-trattamento. In caso contrario si provvederà ad attivare il sistema subito dopo l'intervento stesso. Per valutare l'efficacia dei diversi interventi di controllo, il monitoraggio va proseguito per alcune settimane. Per valutare l'efficacia dell'intervento di controllo si applica la formula che segue:

riduzione % = [1 – (C1 x T2/T1 x C2)] x 100

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 10 di 40

dove C1 è il numero di zanzare nell'area di controllo pre-trattamento, C2 quello della stessa area post-trattamento, T1 il numero di zanzare nell'area trattata pre-trattamento e T2 quello della stessa area post-trattamento.

Con le stesse modalità e con l'uso della stessa formula si può valutare anche l'efficacia di un intervento larvicida, calcolando il numero di larve prima e dopo il trattamento stesso, tramite un numero di pescate standardizzate nei focolai non rimovibili dell'area trattata e di quella di controllo).

13) Follow-up dell'area trattata.

Le attività di sorveglianza (ispezioni, raccolta dati del monitoraggio di adulti e larve, ecc.) nelle aree dove sono stati riportati uno o più casi di WND o USUV, dovranno essere proseguite per almeno 2 settimane per quanto riguarda un singolo caso, e finché permangano condizioni climatiche idonee alla trasmissione del virus, in caso di episodio epidemico. Per quanto riguarda gli insetticidi, come già detto, mentre un trattamento murale può mantenere la sua efficacia anche per mesi, l'intervento abbattente ha solo un effetto transitorio così che la popolazione del vettore può tornare ai livelli di pretrattamento in pochi giorni, tanto da richiedere nuovi interventi con cadenza settimanale nelle aree interessate dal focolaio, finché continuano a verificarsi nuovi casi.

Regione del Veneto-A.O.O Giunta Regionale n.prot. 216749 data 01/06/2017, pagina 11 di 40