



Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

**Webinar - 29 Ottobre 2021**

# Aggiornamenti normativi e ricadute operative dei piani di emergenza e sorveglianza in sanità animale

## “Il Piano integrato delle Arbovirosi: sorveglianza e risposta ai virus West Nile e Usutu ”

**IDA RICCI**

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DEL LAZIO E DELLA TOSCANA “M. ALEANDRI”

*Unità Operativa Complessa Virologia*



# West Nile Virus

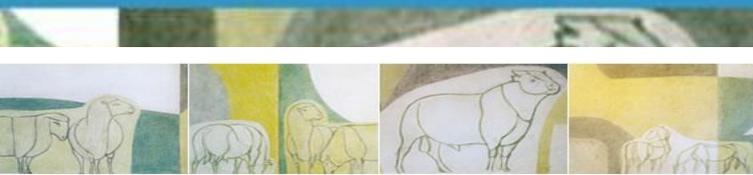
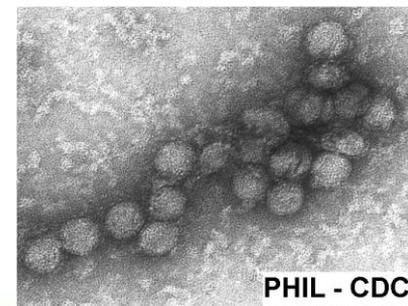


Il virus della West Nile Disease è un  
*Flavivirus* (famiglia *Flaviviridae*)

appartenente al complesso antigenico della  
encefalite giapponese.

È un **arbovirus** responsabile di encefaliti  
→ nell'uomo e nel cavallo.

# Arthropod Borne Virus



# Virus appartenenti al gruppo antigenico del virus dell'encefalite giapponese

## Virus dell'encefalite giapponese (JEV)

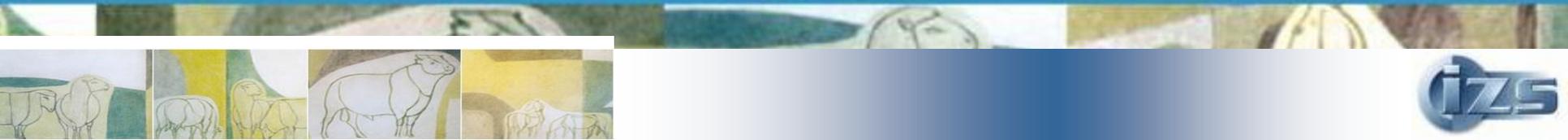
Virus dell'encefalite della valle del Murray

Virus dell'encefalite St. Louis

## Virus dell'encefalite West Nile (WNV)

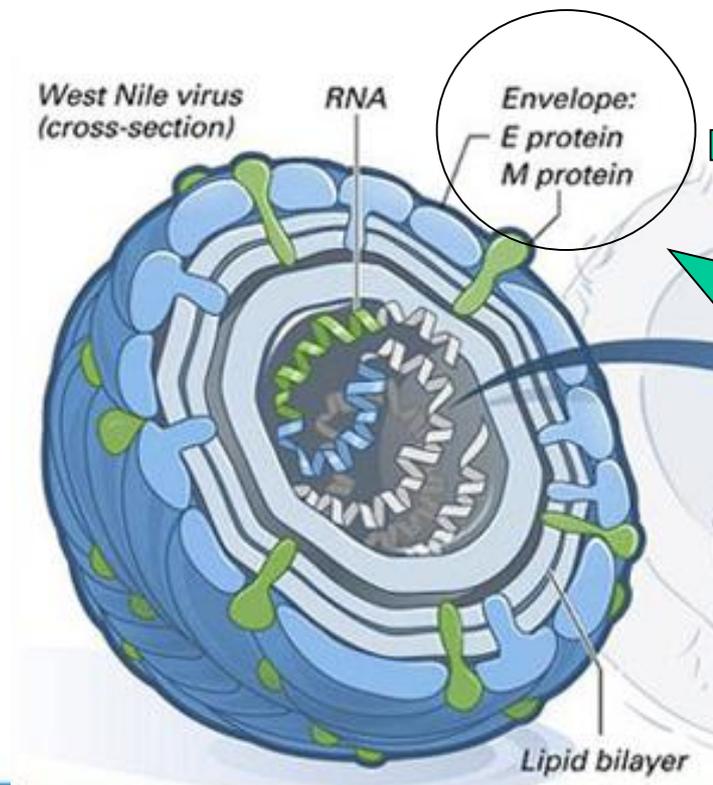
*Kunjin virus*

**Usutu virus (USUV)** → cross-reattività

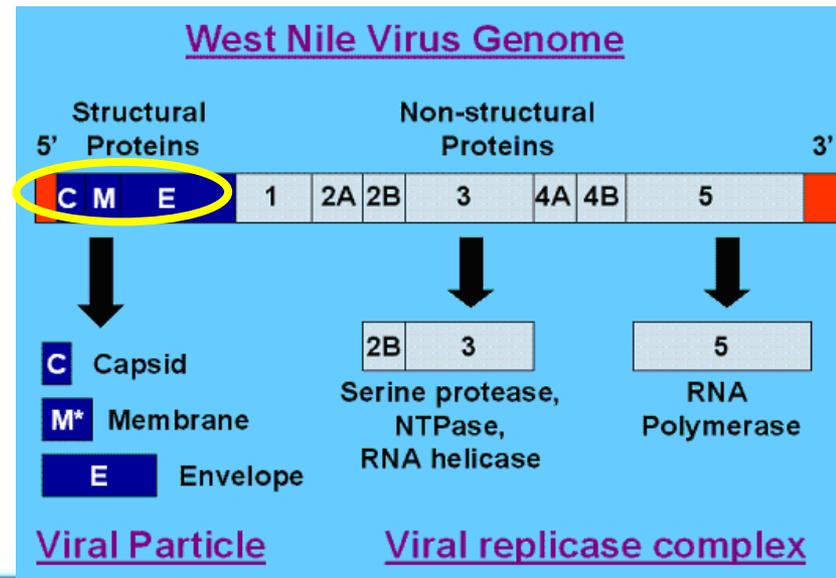


# WNV-morfologia

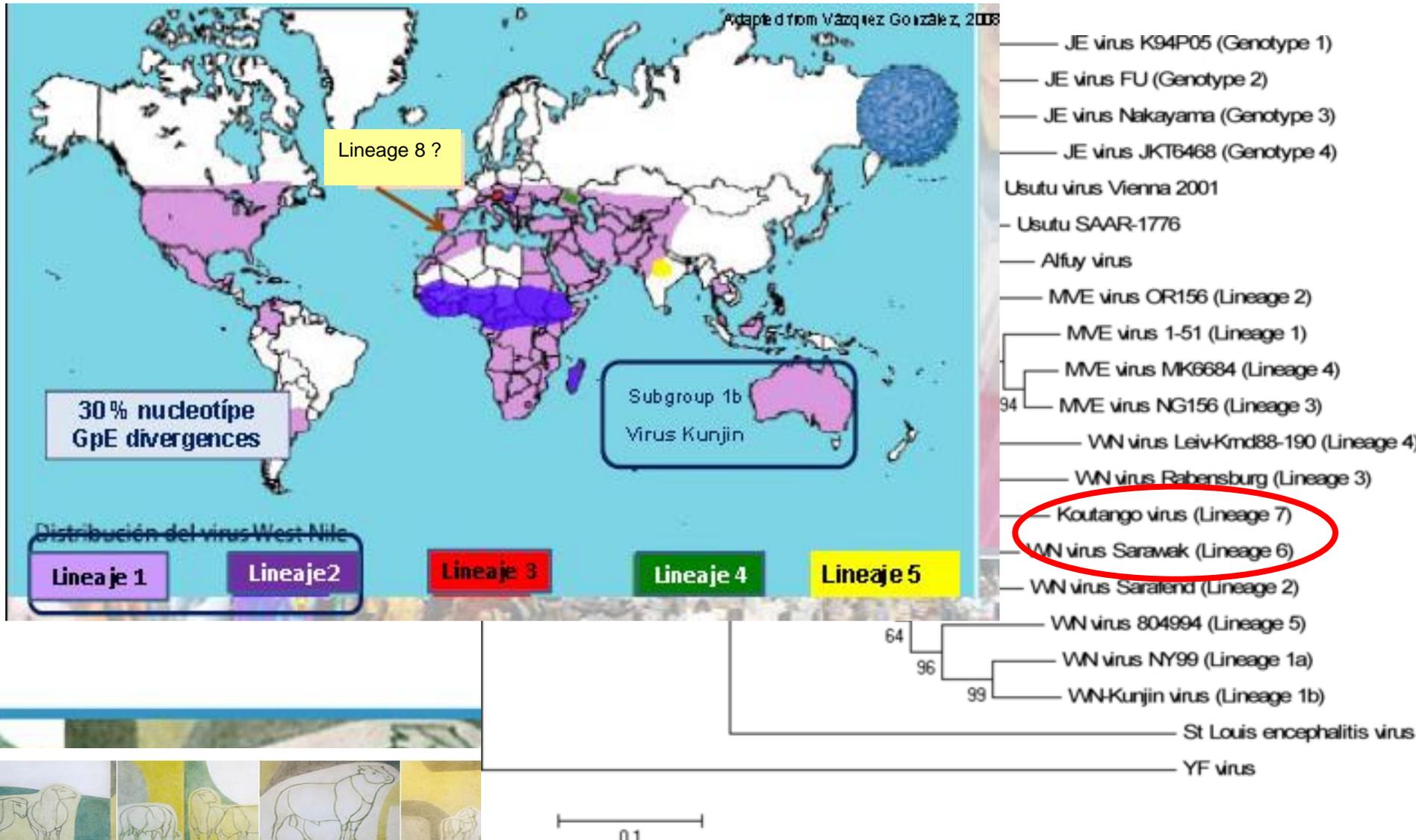
- ❖ Struttura icosaedrica
- ❖ RNA-virus a singolo filamento



**Inducono la formazione di anticorpi neutralizzanti**



## Descritta la presenza di 5 lineages principali



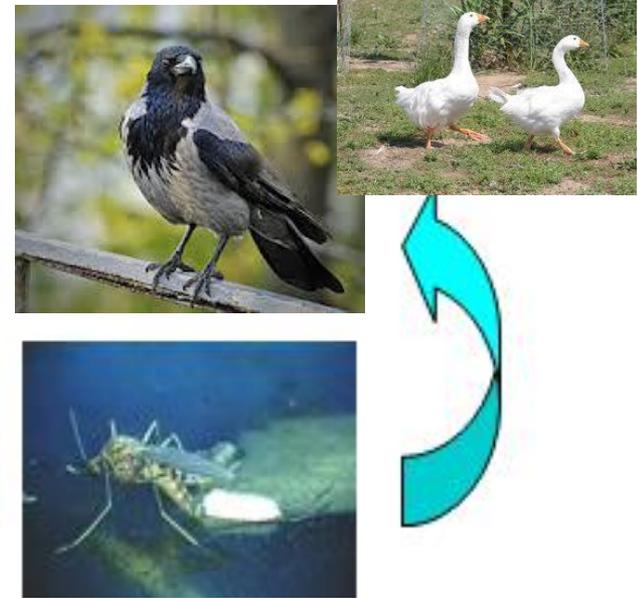
# WNV: CICLO BIOLOGICO

Ciclo rurale/selvatico



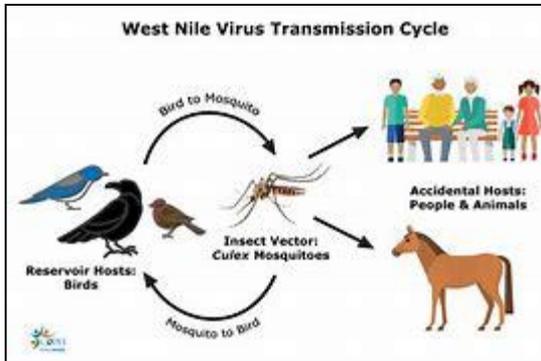
OSPITE  
SERBATOIO

Ciclo sinantropico/urbano



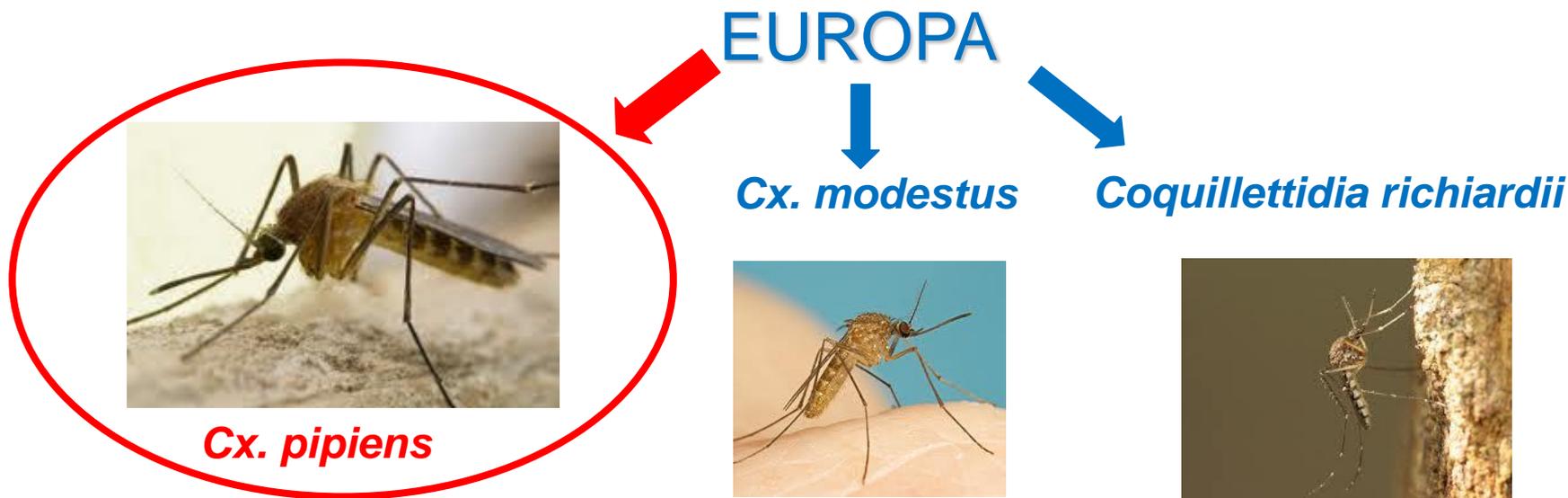
INSETTO VETTORE

OSPITI  
ACCIDENTALI



# WND: TRASMISSIONE VIRUS

I vettori principali sono **zanzare** ornitofile del genere *Culex*



WNV isolato in Europa anche nei generi: *Aedes*, *Anopheles*, *Mansonia*

WNV isolato anche da zecche dei gen.: *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Hyalomma*; non è stata però ancora dimostrata la loro capacità di *mantenere, amplificare e trasmettere il virus.*



# WNV: EVOLUZIONE INFEZIONE

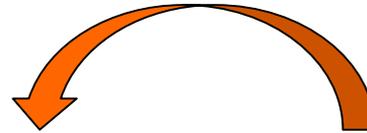
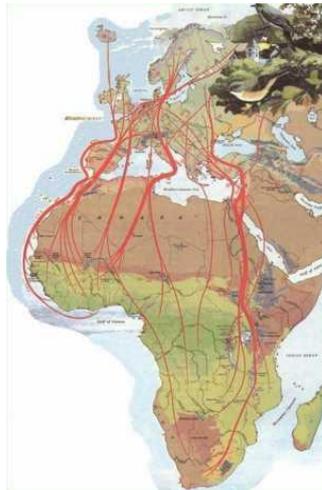
ZONE ENDEMICHE  
AFRICA



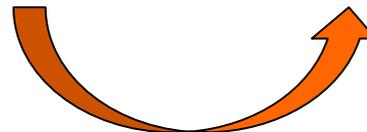
UCCELLI  
MIGRATORI



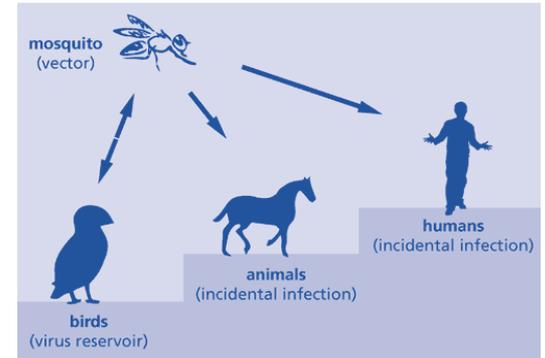
INSETTI  
(VETTORI)



UCCELLI  
STANZIALI



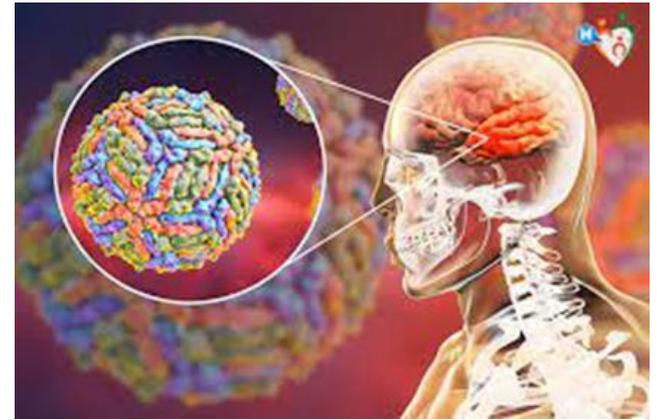
OSPITI  
ACCIDENTALI  
(CAVALLO,  
UOMO)



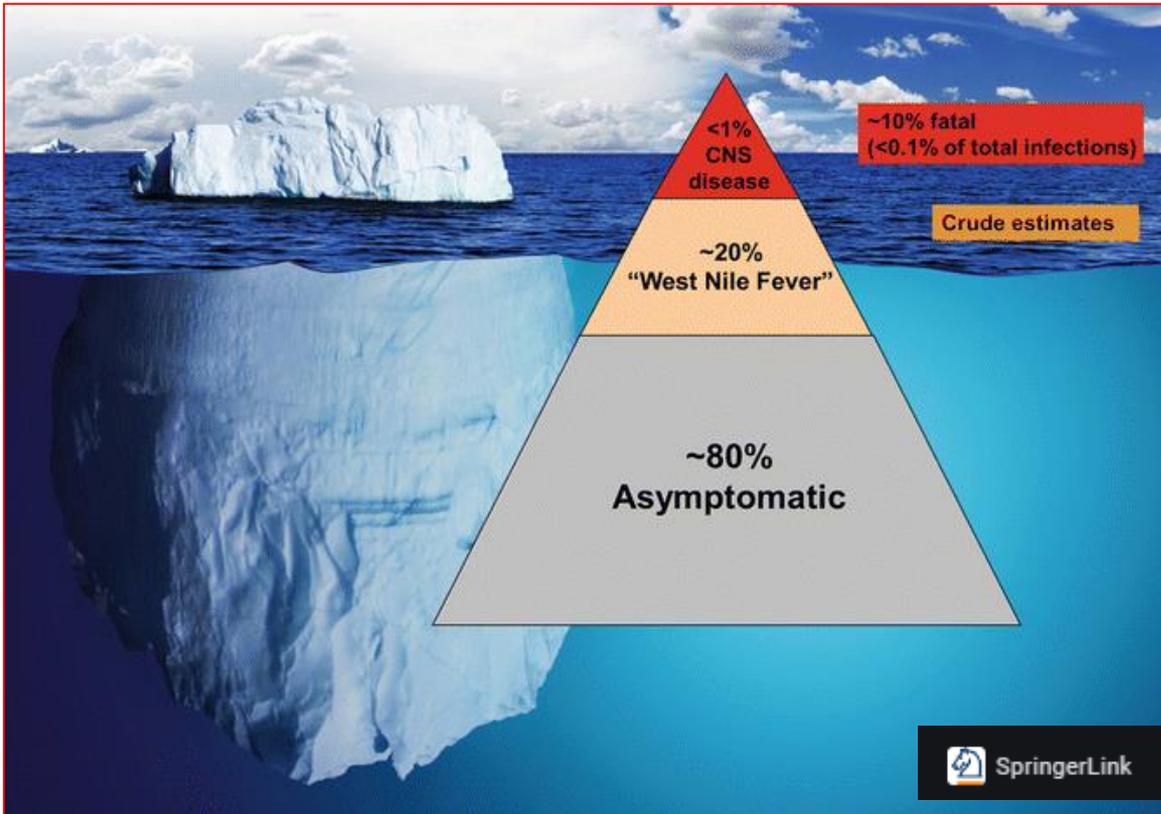
Gen Feb Mar Apr Mag Giu Lug Ago Sett Ott Nov Dic



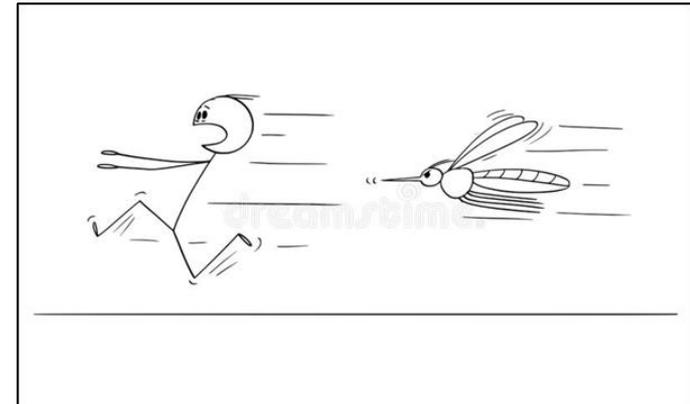
# La West Nile nell'uomo



**< 1% CNS disease**



 SpringerLink



1937: primo isolamento in Uganda nel distretto del Nilo dell'ovest da una donna con sindrome febbrile

Aumento del numero di infezioni nell'uomo e in differenti specie animali  
Comparsa di infezione in zone in precedenza indenni  
Maggior numero e gravità dei casi clinici

WNV segnalata in Africa, Asia ed infine in Europa  
Infezione presente in zanzare, popolazioni aviarie, uomo e cavallo  
Casi clinici rari e lievi

Primi casi segnalati nei cavalli in Egitto e poi in Francia

Documentata nel continente americano solo a partire dal 1999

Primo isolamento

'30 '40 '50 '60 '70 '80 '90 '00 oggi





## In Italia

# 1998: Prima segnalazione di WNV in cavalli in Italia Toscana - Padule del Fucecchio

20 comuni coinvolti (700 Km<sup>2</sup>)

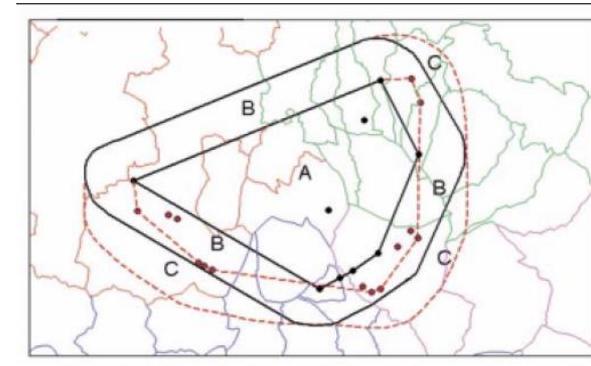
➤ 14 cavalli colpiti da WNV:

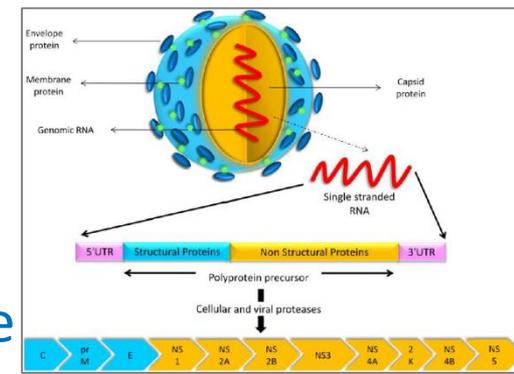
8 con remissione, 2 morti, 4 eutanasia

➤ Studio retrospettivo: 40% di sieroprevalenza nei cavalli di tutte le età (prima introduzione del virus)\*

➤ No casi umani - 2.8% personale allevamenti sieropositivo

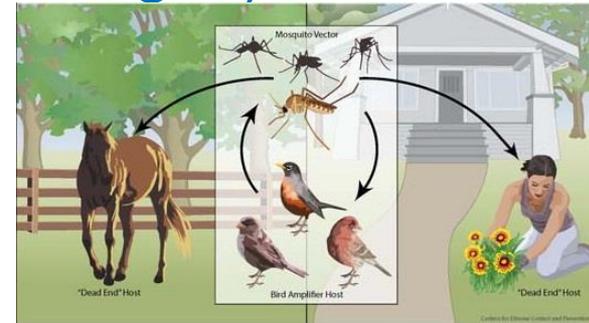
• Autorino G.L. et al (2002): Emerging Infectious Diseases Vol. 8, No. 12, December 2002





# Usutu virus

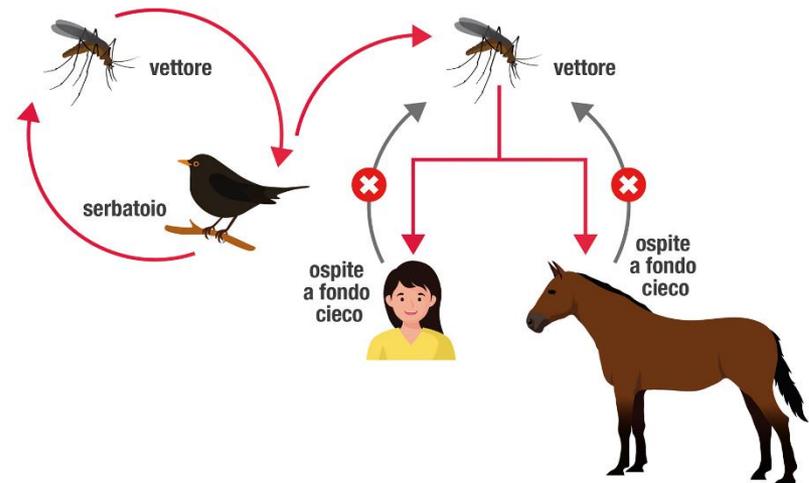
• Appartiene al Gen. *Flavivirus* ed è strettamente correlato al WNV (morfologia e ciclo biologico): *cross-reattività*



-1° isolamento: 1959 Usutu River, Swaziland (oggi eSwatini - Africa)

-USUV osservato la prima volta in Europa nel 1996, dove ha determinato una significativa mortalità tra i merli ed altre specie aviarie in Italia ed altri paesi europei.





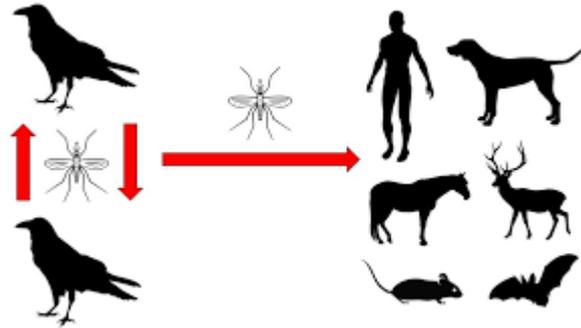
Segnalati in Europa dal 2009:

- casi clinici di malattia neuroinvasiva e febbre da USUV
- sieroconversione in donatori

Impatto differente sulla salute umana vs WNV: pochi casi sporadici (Lombardia, Veneto, Emilia Romagna...) con livelli di sieroprevalenza simile a quella per WNV.

(Vilibic-Cavlek et al., Epidemiology of Usutu Virus: The European Scenario 2020)



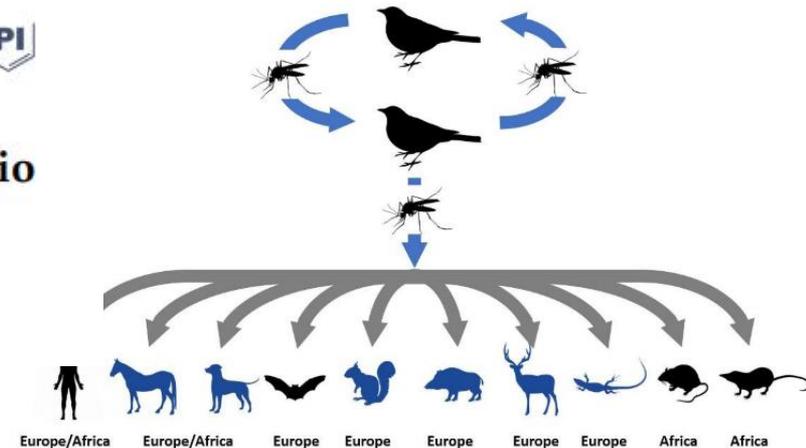


In Europa, USUV è stato rilevato nei pipistrelli, mentre anticorpi per USUV sono stati ritrovati in differenti specie animali come cavalli, cani, scoiattoli, cinghiali, cervi e lucertole.



Review  
**Epidemiology of Usutu Virus: The European Scenario**

Tatjana Vilibic-Cavlek <sup>1,2,\*</sup>, Tamas Petrovic <sup>3</sup>, Vladimir Savic <sup>4</sup>, Ljubo Barbic <sup>5</sup>,  
Irena Tabain <sup>1</sup>, Vladimir Stevanovic <sup>5</sup>, Ana Klobucar <sup>6</sup>, Anna Mrzljak <sup>2,7</sup>, Maja Ilic <sup>8</sup>,  
Maja Bogdanic <sup>1</sup>, Iva Benven <sup>5</sup>, Marija Santini <sup>9</sup>, Krunoslav Capak <sup>10</sup>, Federica Monaco <sup>11</sup>,  
Eddy Listes <sup>12</sup> and Giovanni Savini <sup>11</sup>



(Vilibic-Cavlek et al., Epidemiology of Usutu Virus: The European Scenario 2020)





**Distribution of animal West Nile virus outbreaks in NUTS 3 regions of the EU/EEA countries during the 2021 season, as of 21 October 2021**

- Outbreaks among equids and birds
- Outbreaks among equids
- Outbreaks among birds
- No outbreaks reported
- Not included

Countries not visible in the main map extent

- Malta
- Liechtenstein



Since the beginning of the 2021 transmission season, 34 outbreaks among equids and 8 outbreaks among birds have been reported by EU/EEA countries. Outbreaks among equids have been reported by Germany (15), Spain (10), Portugal (4), Hungary (3), Greece (1) and France (1). Outbreaks among birds have been reported by Spain (7) and Slovenia (1).

## WNV in Europe



Gen-Ott 2021

132 human cases of WNV infection:

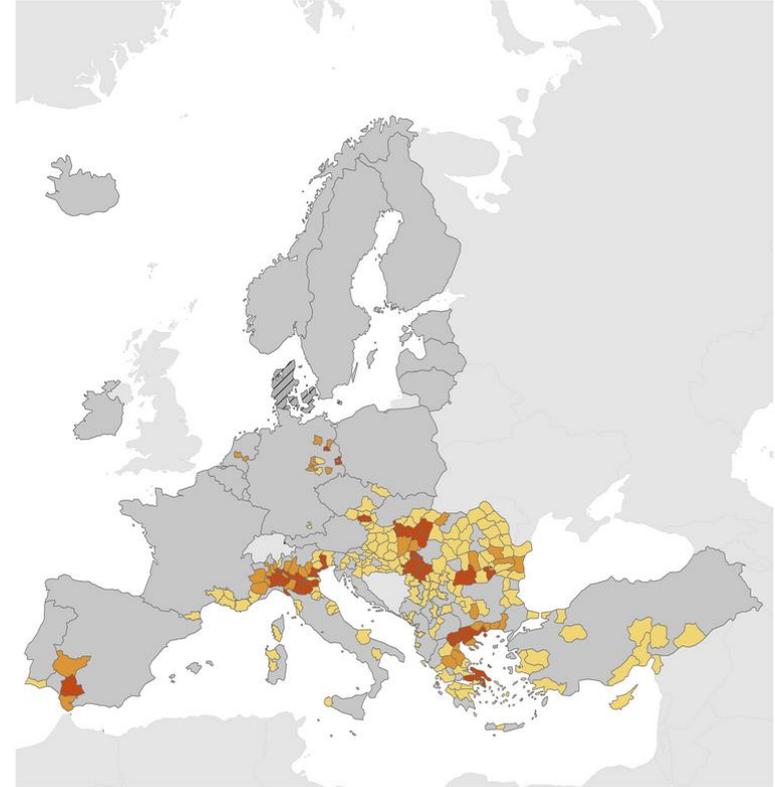
- Greece (54)
- Italy (52)
- Hungary (7)
- Romania (7)
- Spain (6)
- Austria (3)
- Germany (3)

9 deaths in:

- Greece (7)
- Spain (1)
- Romania (1)



**Distribution of human West Nile virus infections in NUTS 3 or GAUL 1 regions in the EU/EEA and neighbouring countries during 2011–2021, as of 7 October 2021**



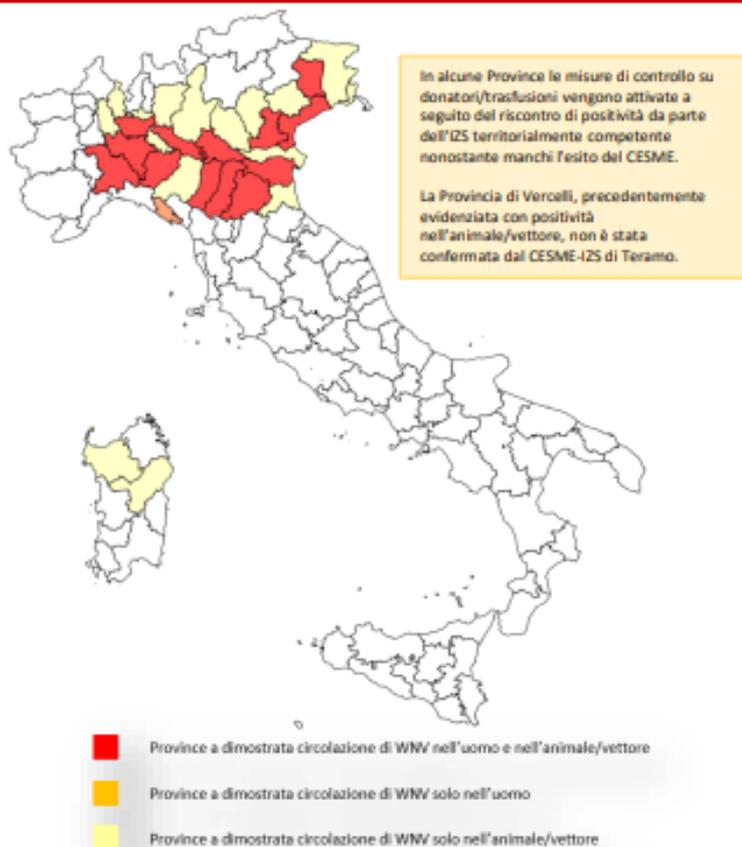
Administrative boundaries: © EuroGeographics © UN-FAO © Turkstat.  
The boundaries and names shown on this map do not imply official endorsement or acceptance by the European Union. Map produced by ECDC on 8 October 2021

EU-neighbouring countries have reported 17 human cases of WNV infection in Serbia (17) and 3 deaths in Serbia (3).



# WNV in Italia: situazione attuale

**Figura 1. Province con dimostrata circolazione di WNV in vettori, animali e uomo (donatori asintomatici, febbri e casi neuroinvasivi confermati)**



**Figura 2. Distribuzione dei casi umani di malattia da WNV nell'Unione Europea**

(Dati CESME-ISS  
al 14.10.21)

- Dall'inizio di giugno 2021 sono stati segnalati in Italia **52** casi confermati di infezione da **West Nile Virus (WNV)** di questi **34** si sono manifestati nella forma neuro-invasiva (1 Liguria, 17 Emilia-Romagna, 1 Friuli-Venezia Giulia, 11 Lombardia, 3 Veneto, 1 Piemonte), **14** casi identificati in donatori di sangue (10 Emilia-Romagna, 2 Lombardia, 1 Veneto, 1 Piemonte) e **4** casi di febbre (1 Emilia-Romagna, 2 Lombardia, 1 Veneto). Il primo caso della stagione è stato segnalato dalla Liguria nel mese di giugno. Nessun decesso è stato riportato tra i casi segnalati. Nello stesso periodo è stato segnalato **1** caso confermato di **Usutu virus** in Lombardia in un donatore.
- La **sorveglianza veterinaria** attuata su cavalli, zanzare, uccelli stanziali e selvatici, ha confermato la circolazione del WNV in **Emilia-Romagna, Veneto, Piemonte, Friuli-Venezia Giulia e Lombardia e Sardegna**. Le analisi molecolari eseguite hanno identificato la circolazione del **Lineage 2** del WNV. Il **Lineage 1** è stato rilevato in un pool di zanzare in catturate in provincia di **Padova**.

2

## Sorveglianza umana

Da **giugno 2021**, inizio della sorveglianza, sono stati segnalati in Italia **52 casi confermati da West Nile Virus (WNV)**, **34** dei quali ha manifestato sintomi neuro-invasivi (**Tabella 1**) tutti casi autoctoni, **14** identificati in donatori di sangue (1 Alessandria, 1 Cremona, 1 Mantova, 5 Modena, 1 Piacenza, 4 Reggio Emilia, 1 Venezia) e **4** caso di febbre (1 Modena, 1 Padova, 1 Pavia, 1 Cremona).

Di seguito è riportata la descrizione delle sole forme neuro-invasive.

Regione/Provincia	Fascia di età					Totale
	<=14	15-44	45-64	65-74	>=75	
<b>Emilia-Romagna</b>						
Bologna			1		1	2
Ferrara					3	3
Modena			1		6	7
Piacenza			1		1	2
Reggio Emilia				1	2	3
<b>Friuli-Venezia Giulia</b>						
Pordenone				1		1
<b>Liguria</b>						
La Spezia				1		1
<b>Lombardia</b>						
Cremona				2		2
Mantova			1	1	1	3
Milano				1		1
Pavia		1	1	1	2	5
<b>Piemonte</b>						
Alessandria					1	1
<b>Veneto</b>						
Padova				1	1	2
Venezia					1	1
<b>Totale</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>9</b>	<b>19</b>	<b>34</b>

### 3 Sorveglianza equidi

Il CESME ha confermato 4 focolai clinici negli equidi in **Lombardia**.



Regione	Provincia	N. Focolai	N. Focolai clinici	Equidi nei focolai				Prevalenza	Letalità
				Presenti	Casi totali	Con segni clinici	Morti/abortus		
LOMBARDIA	BERGAMO	1	1	37	1	1	0	2,70%	0,00%
	MANTOVA	1	1	20	1	1	0	5,00%	0,00%
	PAVIA	1	1	25	1	1	0	4,00%	0,00%
	MILANO	1	1	40	1	1	0	2,50%	0,00%

**Tabella 1** Focolai e casi di WND negli equidi-2021



**Figura 1** Distribuzione geografica degli equidi risultati positivi nei confronti del WNV - 2021



4

## Sorveglianza uccelli bersaglio

La presenza del WNV è stata confermata dal CESME in **28 uccelli appartenenti a specie bersaglio** catturati in **Emilia Romagna, Veneto, Piemonte e Lombardia**.

Appartengono alle specie bersaglio:

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



Regione	Provincia	Cornacchia	Gazza	Ghiandaia	n. uccelli+
EMILIA ROMAGNA	Modena		2		2
	Piacenza	3		1	4
	Ferrara		7		7
	Reggio Emilia	1	2		3
LOMBARDIA	Bergamo	3	1		4
	Milano		3		3
	Mantova	1			1
VENETO	Vicenza		1		1
	Verona	1	1		2
PIEMONTE	Novara	1			1
Totale		10	17	1	28

**Tabella 2** Uccelli bersaglio risultati positivi nei confronti del WNV - 2021



**Figura 2** Distribuzione geografica degli uccelli appartenenti a specie bersaglio risultati positivi nei confronti del WNV - 2021



5

## Sorveglianza uccelli selvatici

La presenza del WNV è stata confermata dal CESME in **21 uccelli selvatici** in **Emilia Romagna, Veneto, Lombardia, Piemonte e Sardegna**.



Regione	Provincia	n. uccelli*
EMILIA ROMAGNA	Bologna	1
	Ferrara	6
	Piacenza	3
	Reggio Emilia	1
VENETO	Verona	1
	Venezia	2
	Pavia	2
LOMBARDIA	Varese	1
	Brescia	1
PIEMONTE	Alessandria	1
SARDEGNA	Nuoro	1
	Sassari	1
Totale		21

**Tabella 3** Uccelli selvatici risultati positivi nei confronti del WNV - 2021

**Figura 4** Distribuzione geografica degli uccelli selvatici risultati positivi nei confronti del WNV - 2021

7

## Sorveglianza avicoli

In nessuna azienda avicola sono state rilevate positività nei confronti del WNV



## 6 Sorveglianza entomologica

La presenza del WNV è stata confermata dal CESME in **73 pool di zanzare** catturate rispettivamente in **Friuli Venezia Giulia, Emilia Romagna, Veneto, Piemonte e Lombardia**. Le analisi molecolari hanno classificato il ceppo virale all'interno del **Lineage 2**. La circolazione del **Lineage 1** è stata confermata in un pool di zanzare catturata in provincia di **Padova**.



**Figura 6** Distribuzione geografica dei pool di zanzare risultate positive nei confronti del WNV - 2021

Regione	Provincia	n.pool+
EMILIA ROMAGNA	Bologna	10
	Ferrara	3
	Modena	10
	Piacenza	8
	Parma	3
	Reggio Emilia	11
FRIULI VENEZIA GIULIA	Udine	1
LOMBARDIA	Lodi	1
	Mantova	1
	Brescia	1
	Pavia	4
PIEMONTE	Alessandria	2
VENETO	Rovigo	2
	Treviso	1
	Venezia	8
	Padova	1
	Verona	6
Totale		73

**Tabella 4** Pool di zanzare risultate positive nei confronti del WNV - 2021



## 8 Sorveglianza USUTU virus

Il virus Usutu è stato identificato in **108 pool di zanzare** catturate in **Abruzzo, Emilia Romagna, Friuli Venezia Giulia, Lombardia, Lazio Piemonte, Marche e Veneto** e negli organi di **117 uccelli selvatici** in **Emilia Romagna, Veneto, Repubblica di San Marino e Toscana**.



**Figura 8** Distribuzione geografica dei pool di zanzare ed uccelli risultati positivi nei confronti dell'USUV - 2021

Regione	Provincia	n.pool*
EMILIA ROMAGNA	Bologna	12
	Ferrara	7
	Modena	12
	Rimini	3
	Parma	2
	Ravenna	2
	Piacenza	5
	Forlì-Cesena	2
	Reggio Emilia	4
MARCHE	Ancona	4
	Ascoli Piceno	2
	Pesaro Urbino	1
	Macerata	5
	Fermo	2
PIEMONTE	Asti	1
VENETO	Rovigo	7
	Venezia	9
	Treviso	8
	Padova	4
	Verona	7
LOMBARDIA	Mantova	3
	Milano	1
FRIULI VENEZIA GIULIA	Pordenone	1
LAZIO	Roma	1
ABRUZZO	Teramo	2
	Pescara	1
Totale		108

**Tabella 4** Dettaglio relativo ai pool di zanzare risultati positivi nei confronti dell'USUV - 2021

Regione	Provincia	n.uccelli*
EMILIA ROMAGNA	Bologna	36
	Forlì-Cesena	8
	Rimini	25
	Ferrara	14
	Modena	2
	Piacenza	4
	Padova	9
VENETO	Venezia	9
	Vicenza	1
	Verona	5
	Rovigo	2
	Grosseto	1
TOSCANA	Grosseto	1
REPUBBLICA DI SAN MARINO	San Marino	1
Totale		117

**Tabella 5** Dettaglio relativo agli uccelli risultati positivi nei confronti dell'USUV - 2021



# Expanding Usutu virus circulation in Italy: detection in the Lazio region, central Italy, 2017 to 2018

Fabrizio Carletti<sup>1</sup>, Francesca Colavita<sup>1</sup>, Francesca Rovida<sup>2</sup>, Elena Percivalle<sup>2</sup>, Fausto Baldanti<sup>3,4</sup>, Ida Ricci<sup>5</sup>, Claudio De Liberato<sup>6</sup>, Francesca Rosone<sup>6</sup>, Francesco Messina<sup>1</sup>, Eleonora Lalle<sup>1</sup>, Licia Bordini<sup>1</sup>, Francesco Vairo<sup>6</sup>, Maria Rosaria Capobianchi<sup>1</sup>, Giuseppe Ippolito<sup>6</sup>, Giuseppina Cappiello<sup>7</sup>, Alberto Spanò<sup>7</sup>, Silvia Meschi<sup>1</sup>, Concetta Castilletti<sup>1</sup>

1. Laboratory of Virology, National Institute for Infectious Diseases "Lazzaro Spallanzani" IRCCS, Rome, Italy
2. Molecular Virology Unit, Microbiology and Virology Department, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italy
3. Department of Clinical, Surgical, Diagnostic and Pediatric Sciences, University of Pavia, Italy
4. Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle regioni Lazio e Toscana, Rome, Italy
5. Regional Service for Surveillance and Control of Infectious Diseases (SERESMI)-Lazio Region, National Institute for Infectious Diseases "Lazzaro Spallanzani" IRCCS, Rome, Italy
6. Scientific Direction, National Institute for Infectious Diseases "Lazzaro Spallanzani" IRCCS, Rome, Italy
7. Unit of Microbiology, Sandro Pertini Hospital, Rome, Italy

Correspondence: Silvia Meschi (silvia.meschi@inmi.it)

## Vector investigation

According to the national integrated surveillance plan for WNV and USUV, the Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana performed the entomological investigation: adult mosquitoes were sampled at sites with known virus circulation (areas where horses positive for anti-WNV antibodies or blood donors reactive in WNV NAT had been identified) using traps of the model Italian Mosquito Trap (IMT; PeP, San Giuliano Milanese, Italy), BG Sentinel (BioGents, Regensburg, Germany) and Gravid (BioQuip Products, Rancho Dominguez, United States). The sampling protocol was defined depending on the number of WNV cases in the area and on the number of caught mosquitoes. After mosquito sorting and identification, those of the species *C. pipiens* were divided in pools of at most 100 specimens and analysed by RT-PCR for virus detection.

In the period between September and October 2018, 47 trapping exercises were performed at nine sites with known virus circulation in the provinces of Rome, Latina and Frosinone. A total of 2,443 specimens of *C.*

*pipiens* were caught, divided into 38 pools and tested by RT-PCR for the presence of WNV and USUV RNA. Among the 38 tested pools, 14 were positive for USUV (minimum infectious rate: 1:3); they originated from two municipalities in the Latina province. Sequencing indicated that these viruses belonged to the 'Europe 2' clade and were very similar to those obtained from blood donors #2 to #5 (Figure 1).

During the same period, three horses with neurological signs and positive WNV serology were located in the province of Latina. One horse died, and WNV lineage 2 was detected by RT-PCR in its brain (cerebellum and medulla oblongata). These results were confirmed by the National Reference Centre for Foreign Animal Diseases (CESME), Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise.

## Characterisation of Usutu virus strains detected in blood donors from northern Italy

We also performed molecular analysis on four USUV-positive blood donations identified in 2017 by the

Scaramozzino et al. *Parasites Vectors* (2021) 14:243  
<https://doi.org/10.1186/s13071-021-04736-z>

Parasites & Vectors

## SHORT REPORT

## Open Access



# West Nile and Usutu viruses co-circulation in central Italy: outcomes of the 2018 integrated surveillance

Paola Scaramozzino<sup>1</sup>, Andrea Carvelli<sup>1\*</sup>, Gianpaolo Bruni<sup>1</sup>, Giuseppina Cappiello<sup>2</sup>, Francesco Censi<sup>3</sup>, Adele Magliano<sup>1</sup>, Giuseppe Manna<sup>1</sup>, Ida Ricci<sup>1</sup>, Pasquale Rombolà<sup>1</sup>, Federico Romiti<sup>1</sup>, Francesca Rosone<sup>1</sup>, Marcello Giovanni Sala<sup>1</sup>, Maria Teresa Sicluna<sup>1</sup>, Stefania Vaglio<sup>4</sup> and Claudio De Liberato<sup>1</sup>

## Abstract

**Background:** West Nile (WNV) and Usutu (USUV) are emerging vector-borne zoonotic flaviviruses. They are antigenically very similar, sharing the same life cycle with birds as amplification host, Culicidae as vector, and man/horse as dead-end host. They can co-circulate in an overlapping geographic range. In Europe, surveillance plans annually detect several outbreaks.

**Methods:** In Italy, a WNV/USUV surveillance plan is in place through passive and active surveillance. After a 2018 WNV outbreak, a reinforced integrated risk-based surveillance was performed in four municipalities through clinical and serological surveillance in horses, Culicidae catches, and testing on human blood-based products for transfusion.

**Results:** Eight WNV cases in eight equine holdings were detected. Twenty-three mosquito catches were performed and 2367 specimens of *Culex pipiens* caught; 17 pools were USUV positive. A total of 8889 human blood donations were tested, and two asymptomatic donors were USUV positive.

**Conclusions:** Different surveillance components simultaneously detected WNV only in horses and USUV only in humans and mosquitoes. While in endemic areas (i.e. northern Italy) entomological surveillance is successfully used as an early detection warning, this method in central Italy seems ineffective. To achieve a high level of sensitivity, the entomological trapping effort should probably exceed a reasonable balance between cost and performance. Besides, WNV/USUV early detection can be addressed by horses and birds. Further research is needed to adapt the surveillance components in different epidemiological contexts.

**Keyword:** Co-circulation, *Culex pipiens*, Italy, Surveillance, Usutu virus, West Nile virus



# PIANI DI SORVEGLIANZA

- **2002: Primo Piano di Sorveglianza nazionale**
- **2016: Primo Piano di Sorveglianza integrato**
- **2017: Introduzione nel Piano dell'USUV**
- **2020: Piano integrato sorveglianza Arbovirosi**



**OBIETTIVI PRINCIPALI:** Individuare e monitorare le aree del territorio nazionale a rischio d'introduzione della malattia al fine di rilevare precocemente la circolazione dei virus e prevenire la loro diffusione attuando misure efficaci.



## Sorveglianza integrata WNV/USUV: obiettivi specifici

### Sorveglianza WNV: obiettivi specifici

Individuare precocemente la circolazione virale.

Attuare misure preventive per ridurre il rischio di trasmissione dell'infezione all'uomo tramite scambio delle informazioni.

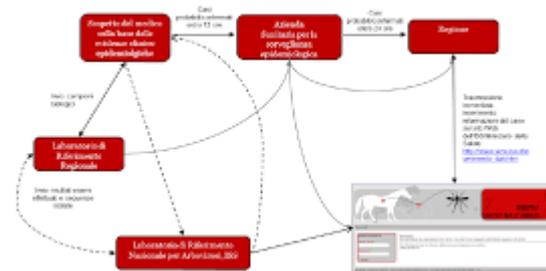
Prevenire il rischio di trasmissione della malattia all'uomo attraverso le donazioni/trapianti sia attraverso il vettore.

Governare le eventuali emergenze epidemiche.

### Sorveglianza USUV: obiettivi specifici

Individuare la possibile circolazione virale per definire i cicli epidemiologici di trasmissione dell'USUV

Attuare misure preventive per ridurre il rischio di trasmissione dell'infezione all'uomo tramite scambio delle informazioni.



## Sorveglianza della circolazione di WNV e USUV attraverso:

1. sorveglianza su uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio\*;
2. sorveglianza su esemplari di uccelli selvatici rinvenuti morti;
3. sorveglianza entomologica;
4. sorveglianza clinica negli equidi;
5. sorveglianza dei casi umani.



PER TUTTO L'ANNO SU  
TUTTO IL TERRITORIO  
NAZIONALE

\*Nelle aree a basso rischio (BR) è possibile, in alternativa, attuare la sorveglianza su allevamenti avicoli rurali o all'aperto.



# Distinzione in aree in funzione circolazione virale WND ultimi 5 anni + condizioni epidemiologiche/ecologiche/ambientali

**AR=aree ad alto rischio di trasmissione**



**SORVEGLIANZA SU:**  
a. uccelli stanziali spp bersaglio,  
b. entomologica  
c. equidi sintomatici (solo WNV),  
d. uccelli selvatici rinvenuti morti,  
e. casi di malattia e/o infez. uomo.

**BR=aree a basso rischio di trasmissione**



**SORVEGLIANZA SU:**  
a. uccelli stanziali spp bersaglio o all.ti avicoli rurali o all'aperto  
b. Entomologica  
c. equidi sintomatici (solo WNV),  
d. uccelli selvatici rinvenuti morti,  
e. casi di malattia e/o infez. uomo.

**AR=** il virus circola in maniera ricorrente

**BR=** il virus non ha circolato o ha circolato in modo sporadico ma le condizioni ecoclimatiche sono favorevoli alla circolazione

**RM=**il virus non ha mai circolato e la probabilità di circolazione è minima

RM=rischio minimo di trasmissione

Regione/Provincia	Superficie totale (Km <sup>2</sup> )
Toscana	
Pistoia	964.12



**SORVEGLIANZA SU:**  
a. equidi sintomatici (solo WNV),  
b. uccelli selvatici rinvenuti morti,  
c. casi di malattia e/o infez. uomo.



# Sorveglianza passiva: per tutto l'anno in tutte le aree (AR, BR, RM)

- ✓ **Casi umani autoctoni e importati:** (rafforzare nel periodo maggio-novembre)
  
- ✓ **Equidi sintomatici (WND):**
  - In soggetti con sintomi clinici riferibili a WND:  
prelievo di sangue con e senza antic. EDTA + scheda W03->IZS (Elisa IgM + RT-PCR)
  - In soggetti deceduti o soppressi in seguito a sindrome neurologica:  
prel. di cervello, tronco encefalico (midollo allungato), mid. spinale (tratto toraco lombare), cuore, rene e milza + scheda W03 ->IZS (RT-PCR)
  
- ✓ **Uccelli selvatici trovati morti (da intensificare durante periodo attività insetti vettori):**  
Prelievo di cuore, cervello, rene e milza di uccelli trovati morti (anche nell' ambito di altri Piani) degli ordini Passeriformi, Ciconiformi, Caradriformi, Falconiformi, Strigiformi + W02 (schede distinte per zona di provenienza e spp) -> IZS (RT-PCR) – (Esaminati pool di organi per soggetto)

**Gli esami di conferma degli esiti positivi vengono effettuati dal CESME**



## Sorveglianza attiva - Aree AR

### Uccelli stanziali (Es. gazza, cornacchia grigia, ghiandaia) da MARZO a NOVEMBRE :

100 soggetti per unità geografica (1200-1600 Km<sup>2</sup>):

prel. 7 sogg. ogni 2 sett W02-> IZS (RT-PCR)

– stessi organi da prelevare per sorv. Passiva

*Se non possibile proposta alternativa per sorv. uccelli e/o potenziamento sorv. entomologica*

Regione/Provincia	Superficie totale (Km <sup>2</sup> )	Numero di aree
<b>Toscana</b>		<b>16</b>
Massa-Carrara	1154.68	1
Lucca	1773.22	1.5
Firenze	3513.69	2.5
Livorno	1213.71	1
Pisa	2444.72	2
Arezzo	3233.08	2.5
Siena	3820.98	3
Grosseto	4503.12	2.5

### Sorveglianza entomologica da APRILE a NOVEMBRE (cmq in fx clima locale):

Catture ogni 15 gg in ogni area (20x20Km) +W05-> IZS (IDENTIFICAZIONE + RT-PCR) – pool di 200 esemplari max per spp

*Può essere sospesa in caso di circolazione virale/ no per unità in prossimità di aree non interessate da circolazione*

<b>Lazio</b>		<b>10,5</b>
Viterbo	3615,24	2,5
Roma	5363,28	4
Latina	2256,16	1,5
Frosinone	3247,08	2,5



## Sorveglianza attiva - Aree a BR

- **Uccelli stanziali (gazza, cornacchia grigia, ghiandaia)** marzo-novembre:  
100 per unità geografica (1200-1600 Km<sup>2</sup>): prel. 7 sogg/2 sett W02-> IZS (RT-PCR)

Regione/Provincia	Superficie totale (Km <sup>2</sup> )	Numero di aree
<b>Toscana</b>		<b>0</b>
Prato	365,72	0
<b>Lazio</b>		<b>1,5</b>
Rieti	2750,52	1,5

- **Sorveglianza entomologica:**

Catture ogni 15 gg da Aprile a Novembre in ogni area (20x20Km) nelle zone ritenute adatte all'instaurarsi di un ciclo tra avifauna e zanzare+W05-> IZS (IDENTIFICAZIONE + RT-PCR)  
– stessa modalità descritta per le aree AR



# Sorveglianza attiva - Aree BR

- **Allevamenti avicoli rurali o all'aperto** dove la sorveglianza sugli uccelli stanziali non può essere attivata o si prevede che non sarà in grado di raggiungere almeno il 50% dei controlli previsti:

- prelievi con cadenza mensile da marzo a novembre in sogg. < 6 mesi (se possibile contestuali a quelli per IA):

prel. di sangue con e senza anticoagulante EDTA  
+ scheda W01 -> IZS (ELISA + RT-PCR se Elisa po

Tabella 1. Numero di allevamenti da campionare per la ricerca del WNV e dell'USUV. (Campionare per il rilievo dell'infezione nel 5% degli allevamenti con il 95% di LC)

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

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

- **Da privilegiare gli allevamenti in prossimità di aree umide o con un'elevata concentrazione di avifauna selvatica.**



## Sorveglianza veterinaria

### **Caso sospetto di WND/USUTU:**

- organi/sangue di uccelli** (catturati, campionati, ritrovati morti): RT-PCR pos\*;
- Soggetti di all.ti avicoli rurali o all'aperto: ELISA pos\*
- pool di zanzare**: RT-PCR pos\*.
- equidi** (solo per WND): con sintomi clinici riconducibili a WND  
(art. 1 comma 2 OM agosto 2011 e s.m.);

\*Esami effettuati presso Il.ZZ.SS. Competenti per territorio

**Tutti i casi sospetti devono essere confermati dal CESME.**



# La West Nile nel cavallo

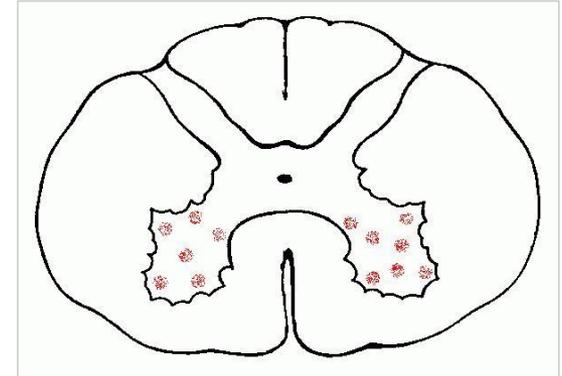
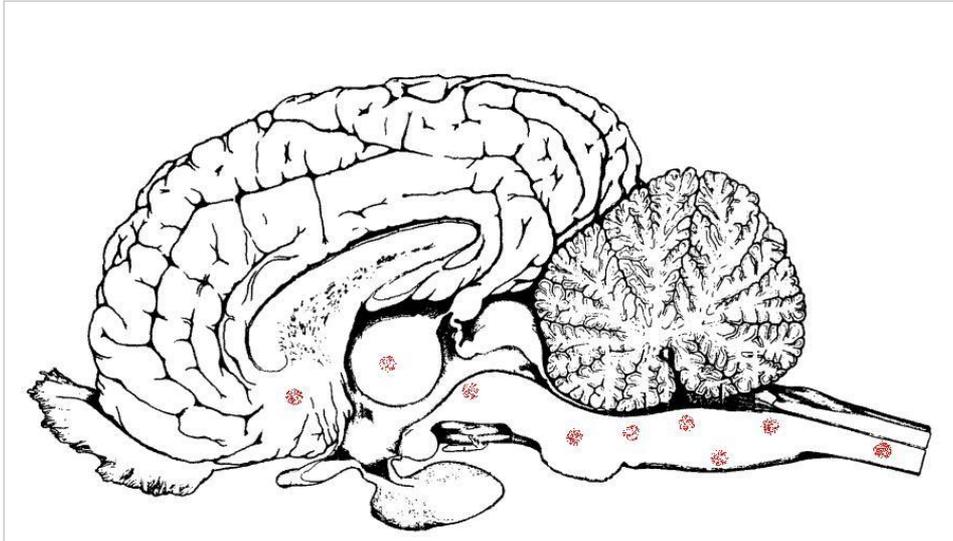
## FORME ASINTOMATICHE, SIMIL-INFLUENZALI E NEUROLOGICHE



- bassa frequenza di casi clinici
- infezioni sub-cliniche, febbre iniziale
- meningoencefalomielite discendente antero-posteriore (paresi treno posteriore – mortalità fino al 33%)
- Ipermetria - deficit propriocettivi - movimenti in circolo - testa piegata - larga base d'appoggio degli arti
- Fascicolazioni muscolari (testa, spalla, tronco)
- Modificazioni del sensorio, iperestesia
- Atassia simmetrica o asimmetrica del posteriore; debolezza; paraparesi, tetraparesi con decubito e pedalamento; tetraplegia

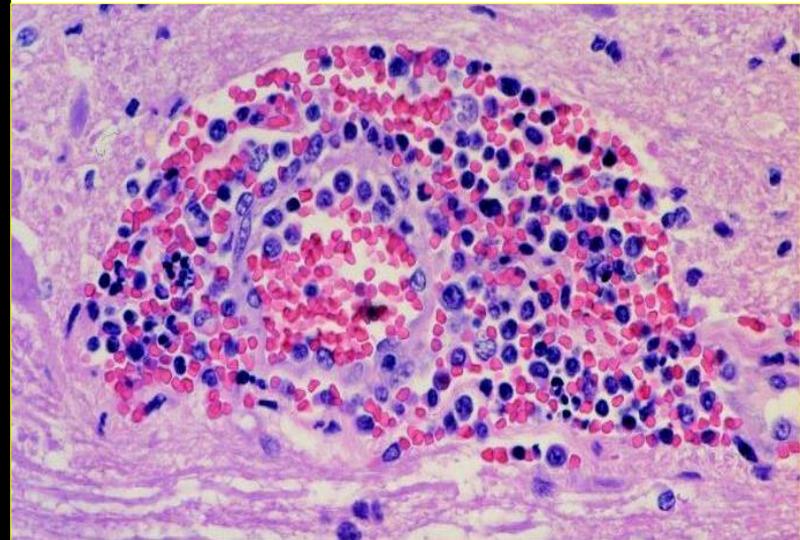
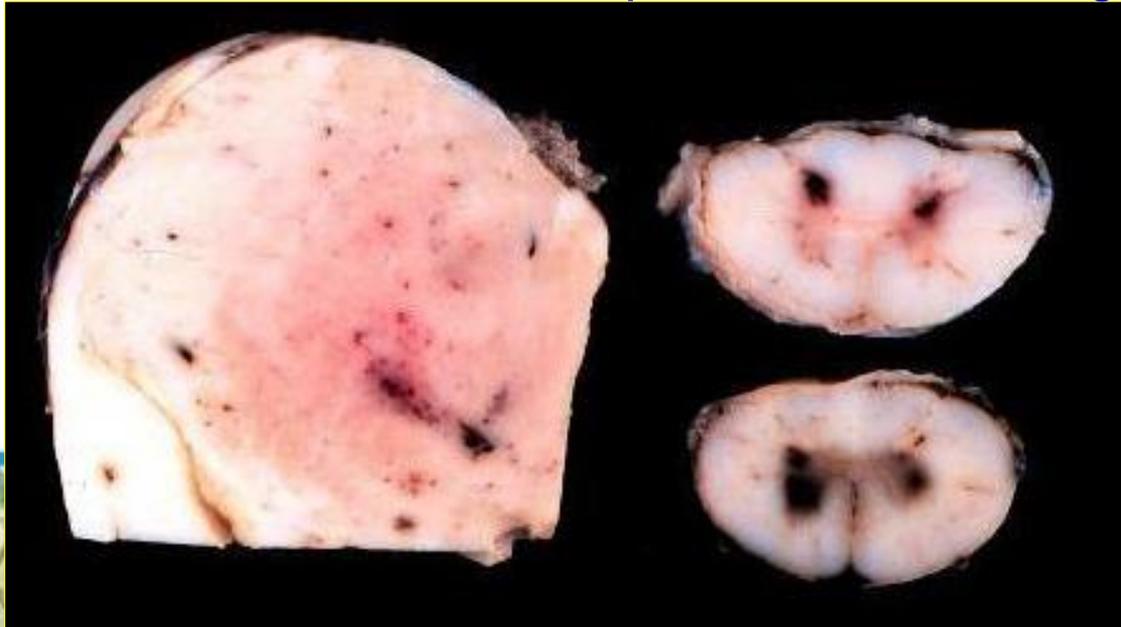


# La West Nile nei cavalli : distribuzione delle lesioni



corni ventrali  
midollo tratto  
LOMBO-SACRALE

Diencefalo, mesencefalo, ponte, midollo allungato



Su gentile concessione prof. Carlo Cantile

SORVEGLIANZA ATTIVA	Matrice	Test
Uccelli stanziali (gazza, corvo, ghiandaia)	cuore, cervello, rene, milza	Real Time PCR (WND Lineage 1 e 2)
Insetti	gen <i>Culex</i>	
Allevamenti rurali di spp aviari	SIERO	ELISA competitiva
SORVEGLIANZA PASSIVA	Matrice	Test
Uccelli selvatici (Passerines, Ciconiforms, Charadriiformes, Falconiforms, Strigiformes)	cuore, cervello, rene, milza	Real Time PCR (WND Lineage 1 e 2)
Cavalli deceduti con sintomi riferibili a WND	cervello, midollo spinale (tratto lombare), cuore, rene, milza	
Equidi sintomatici	Sangue (siero e sangue con anticoagulante)	ELISA IgM test/RT PCR



CRITERI	WND/USUTU
Clinico	<p><b><u>Caso sospetto:</u></b> Febbre o almeno uno dei seguenti segni clinici:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>-encefalite;</li><li>-Meningite a liquor limpido;</li><li>-Poliradico- neurite (simil Guillan-Barrè);</li><li>-Paralisi flaccida acuta.</li></ul>
Di laboratorio	<p><b><u>Caso sospetto:</u></b> -presenza di IgM specifiche nel siero;</p> <p><b><u>Caso confermato:</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Isolamento dei virus nel siero, nelle urine e/o nel liquor;</li><li>- Identificazione dell'acido nucleico dei virus nel sangue, nelle urine e/o nel liquor;</li><li>- Presenza di IgM nel liquor;</li><li>- Alto titolo di IgM e presenza di IgG nel siero e conferma in SN <i>(Per USUV non ci sono test commerciali per IgM quindi vanno inviati ai lab di riferimento che impiegano saggi in house).</i></li></ul>



## Obbligatoria la notifica immediata di:

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



## Sorveglianza veterinaria

### **Caso confermato di WND/USUTU:**

- allev.ti avicoli rurali o all'aperto**: ELISA pos confermata in SN dal CESME in soggetti < 6 mesi;
- organi/sangue di uccelli** (catturati, campionati, ritrovati morti): RT-PCR pos confermata dal CESME;
- pool di zanzare** RT-PCR: esito pos confermato dal CESME;
- equidi** (solo per WND): Elisa IgM e/o RT-PCR pos confermate dal CESME in soggetti con sintomi clinici riconducibili a WND.



# Misure specifiche relative alla sorveglianza veterinaria

## Casi confermati in equidi:

- indagine epidemiologica
- BR+RM: visita clin.+prel. Siero campione equidi in az.(tab.2 all. 5)+W03->IZS (Elisa IgM)
- campionamento entomologico: se l'indagine epidemiol. evidenzia circolazione virale->protocollo studiato da IZS con parere CESME.

## Casi confermati in allevamenti avicoli rurali o all'aperto:

- sequestro allevamento e abbattimento capi
- carcasse animali positivi+W01->IZS (RT-PCR per WND/USUTU su stessi organi sorv. passiva)
- sorv. entomologica: attivare se la zona è esterna all'area oggetto di campionamento



# Notifica su SIMAN

- ✓ La ASL deve registrare nel SIMAN entro 3 giorni lavorativi i casi sospetti di WND in equidi, avicoli, uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio, uccelli selvatici, e pool di zanzare.
- ✓ La ASL provvede a confermare o meno in SIMAN i casi sospetti di WND entro 3 giorni lavorativi dalla ricezione degli esiti degli esami di conferma.
- ✓ La data del sospetto deve corrispondere alla data del prelievo e la data di conferma deve corrispondere alla data di emissione del rapporto di prova del CESME.
- ✓ L'estinzione e chiusura dei casi confermati di WND deve avvenire entro la fine di febbraio dell'anno successivo al riscontro della positività.



In caso di circolazione virale (WND/USUTU) in zanzare, avifauna, equidi, esseri umani:

- attivare misure di contrasto agli insetti dei vettori (interventi adulticidi in presenza di cluster di 2 o più casi umani di forme neuroinvasive)
- informare la popolazione interessata
- sensibilizzare il personale medico
- adottare misure nei confronti delle donazioni di sangue ed emocomponenti, organi e tessuti **(controlli solo x WND)**





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

GRAZIE PER LA  
VOSTRA  
ATTENZIONE

**IDA RICCI** [ida.ricci@izslt.it](mailto:ida.ricci@izslt.it)

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DEL LAZIO E DELLA TOSCANA "M. ALEANDRI"

*Unità Operativa Complessa Virologia*

