

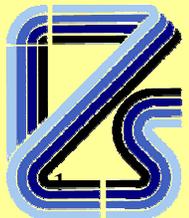


***Epidemiologia della
West Nile Disease
L'epidemia 2008
La sorveglianza 2009***

Marco Tamba

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della
Lombardia e dell'Emilia-Romagna
Centro Emiliano Romagnolo di
Epidemiologia Veterinaria

marco.tamba@izsler.it



West Nile Virus

Il virus della West Nile Disease è un *Flavivirus* (famiglia *Flaviviridae*) appartenente al complesso antigenico della encefalite giapponese.

E' un arbovirus ed è 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

Virus dell'encefalite della valle del Murray

Virus dell'encefalite St. Louis

Virus dell'encefalite West Nile

Kunjin virus

Usutu virus

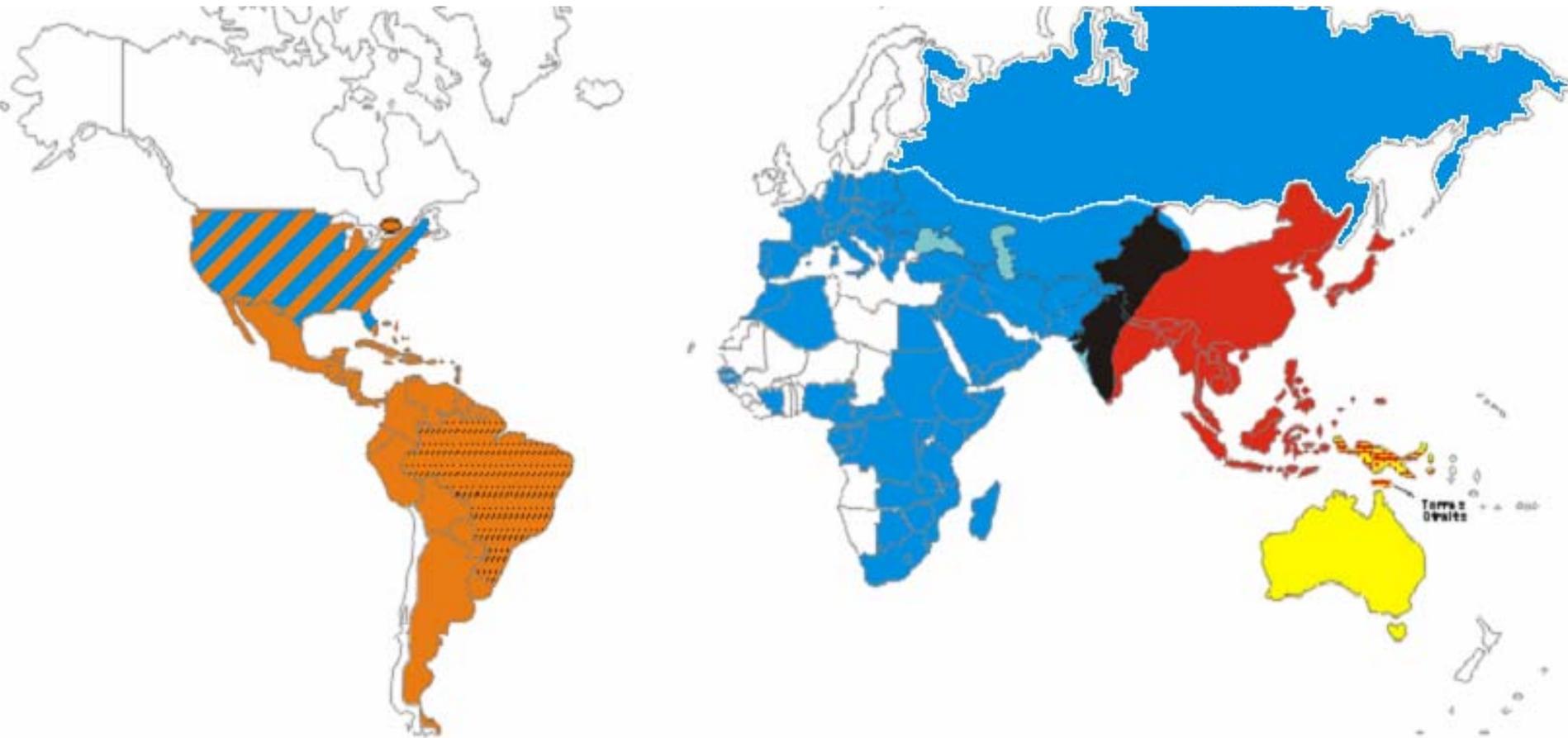
Koutango virus

Yaounde virus

Cacipacore virus



Gruppo encefalite giapponese: diffusione



- St. Louis
- Rocio and St. Louis (Brazil)
- West Nile
- Japanese
- Japanese and Murray Valley
- Murray Valley and Kunjin

West Nile Virus: Approximate Geographic Range, 2003



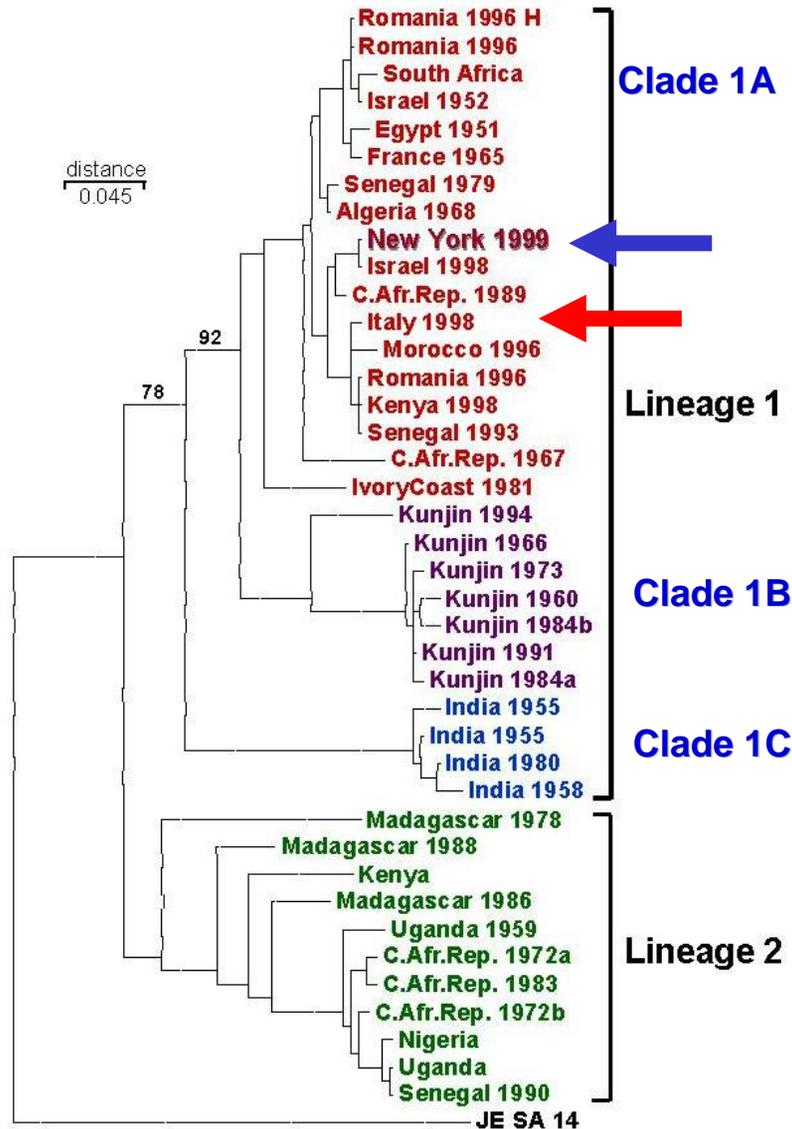
La WND nel Bacino del Mediterraneo

- Il virus WN viene considerato **endemico** nel bacino del Mediterraneo
- Può circolare senza dare sintomi rilevabili
- Si manifesta con epidemie limitate, improvvise e imprevedibili (**Emerging/Re-emerging disease**)
- Generalmente circola in aree umide o nei delta dei fiumi, possibili cicli urbani (zanzare o uccelli “*ponte*”).
- L’infezione entra in una nuova area con gli uccelli migratori

Genetica del Virus della West Nile

- **Due Lineage del virus della West Nile**
 - **I ceppi del Lineage 2 sembrano meno patogeni. Presenti in Africa, ma recentemente segnalati anche in HU e AT.**
 - **Epidemie con sintomi nervosi sono associate al clade A all'interno del Lineage 1**
- **L'epidemia West Nile negli USA è sostenuta da un virus del lineage 1 clade A geneticamente omogeneo (omologia >99.7%)**

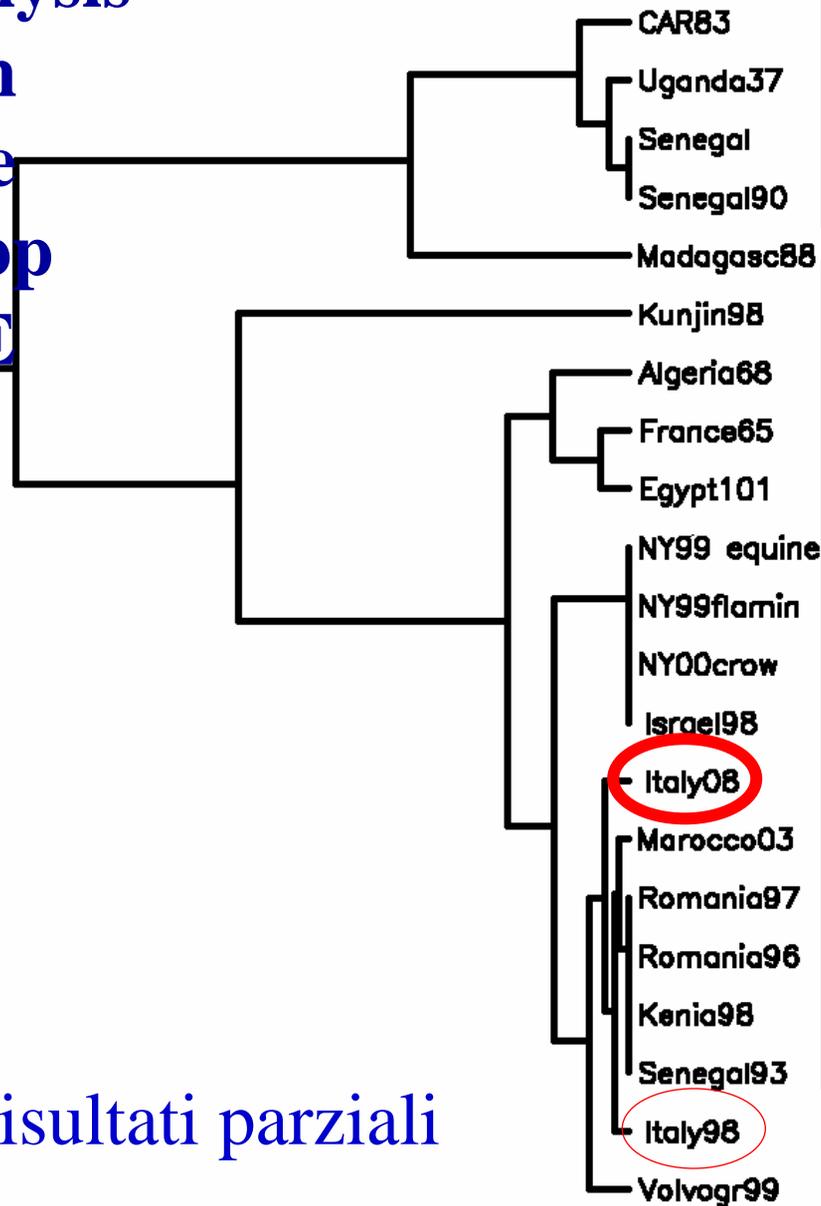
Phylogenetic Tree Based on Envelope Glycoprotein Sequence Data



Lanciotti et al. 1999.
 Origine del virus
 della West Nile
 responsabile di un
 focolaio di encefalite
 in Nord Est degli
 USA [Science
 286:2333-337.]

Phylogenetic analysis of WNV based on partial nucleotide sequence of 255 bp fragment of the E gene

Risultati parziali

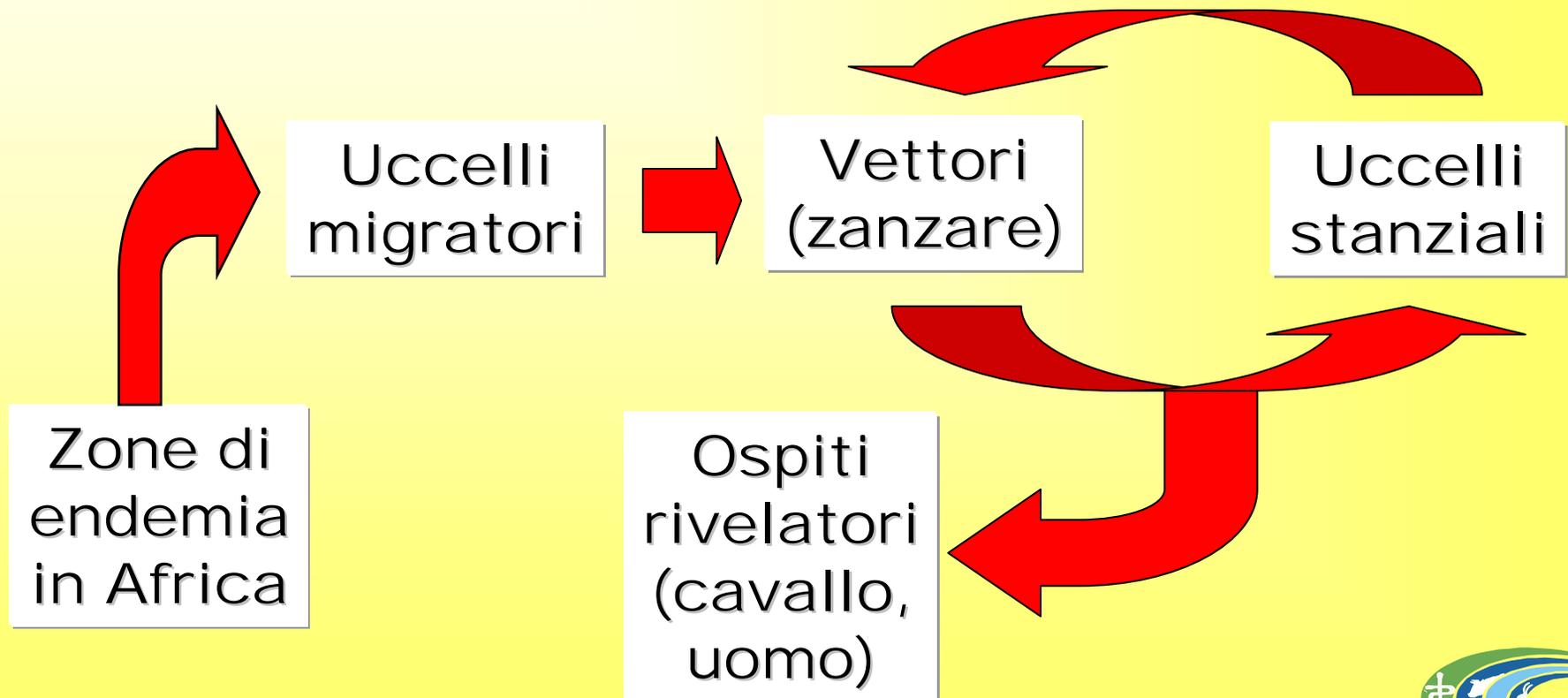


Lineage 2

Lineage 1

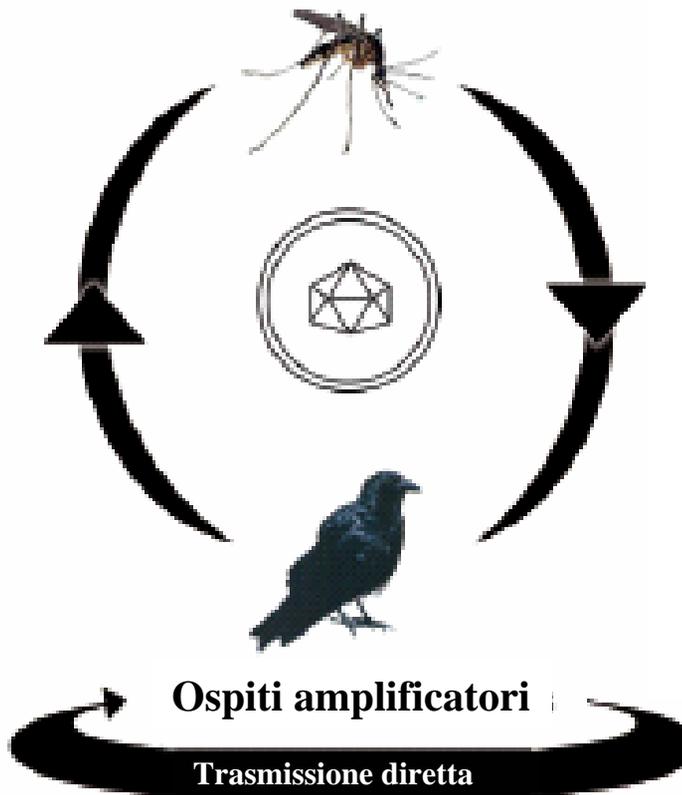
Clade A

*La WND nei cavalli e nell'uomo rappresenta la fase finale dell'epidemia nelle diverse popolazioni animali
Da dove è arrivata? (Ipotesi più probabile)*



Virus West Nile: ciclo di trasmissione

Vettore biologico/serbatoio
Zanzare del genere *Culex* e *Aedes*



L'infezione ha un **ciclo silvestre** tra un vettore biologico (zanzara) e un ospite amplificatore (uccelli selvatici).

Tra gli uccelli selvatici ci può essere trasmissione diretta (ciclo oro-fecale; infez. orale da necrofagia)

Focolaio WND 2/2008



Scuderia con 5 box e 3 casi clinici

Virus West Nile: i vettori

Isolato da più di 40 specie di **zanzare** appartenenti a 11 diversi generi

- Genere *Culex*:
 - *Cx. univittatus*, *Cx. perixiguus*, *Cx. pipiens*, *Cx. modestus*, *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. tritaeniorhynchus*, and *Cx. vishnui*
- Altre zanzare di altri generi:
 - *Aedes*, *Aedeomyia*, *Anopheles*, *Coquillettidia*, *Mansonia*, *Mimomyia*

Isolato da zecche:

- *Argas*, *Ornithodoros*
- *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Hyalomma*, *Rhipicephalus*.

Virus West Nile: i vettori

Il **titolo virale ematico** è uno dei fattori fondamentali per la trasmissione del virus.

In prove di laboratorio su *Cx.tarsalis*:

- **74%-100%** si infettano alimentandosi su animali con titolo **$10^{7.1}$** PFU/ml
- **0%-36%** si infettano alimentandosi su animali con titolo **$10^{4.9}$** PFU/ml

Si considera pertanto infettante per il vettore un titolo virale di **10^5** PFU/ml

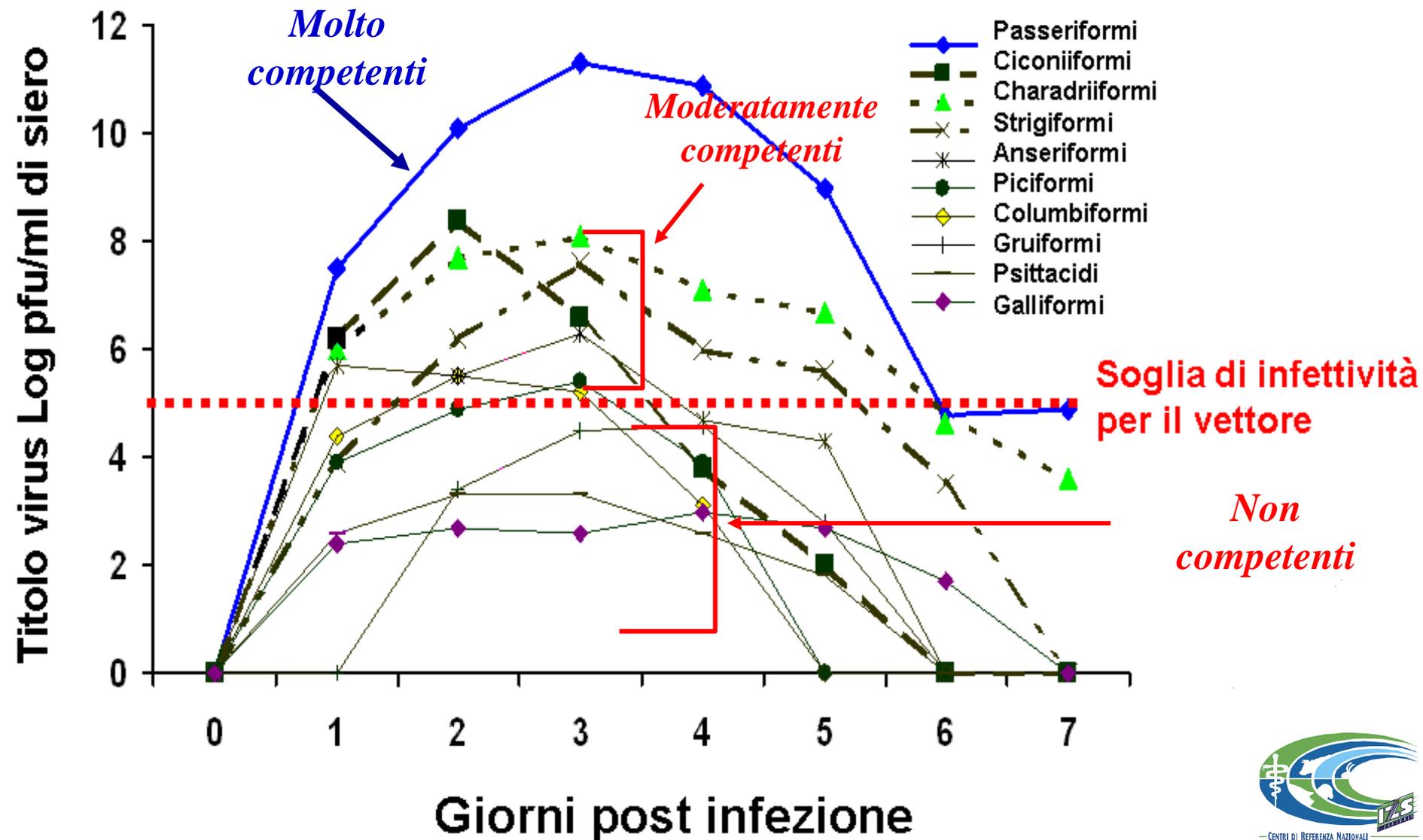
- Uomo: *titolo max rilevato* **$10^{3.2}$** PFU/ml
- Cavallo: *titolo rilevato* **$10^{2.7}$** PFU/ml

Uccelli: gli ospiti amplificatori

**Finding a dead crow could be
the first sign of WNV**

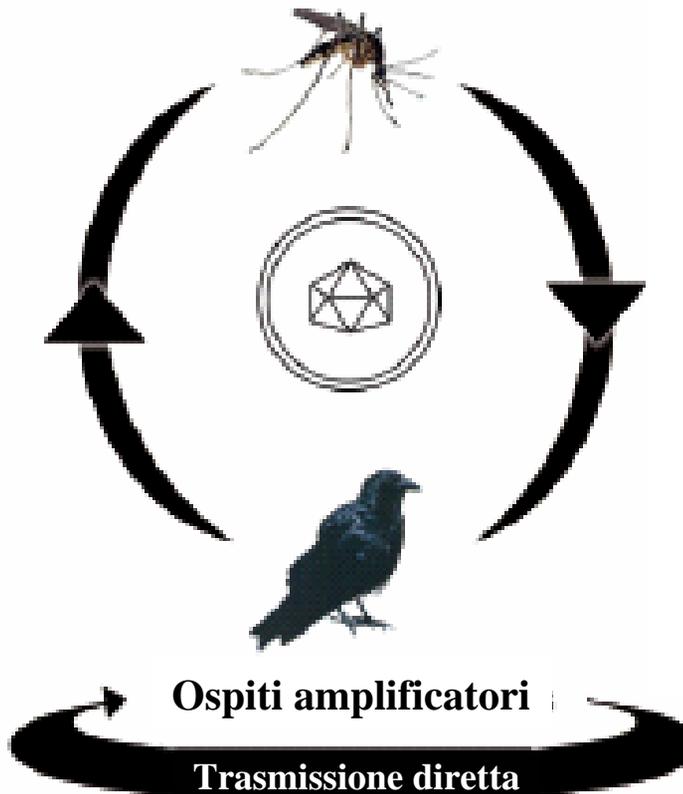


Sensibilità di specie diverse di uccelli



Virus West Nile: ciclo di trasmissione

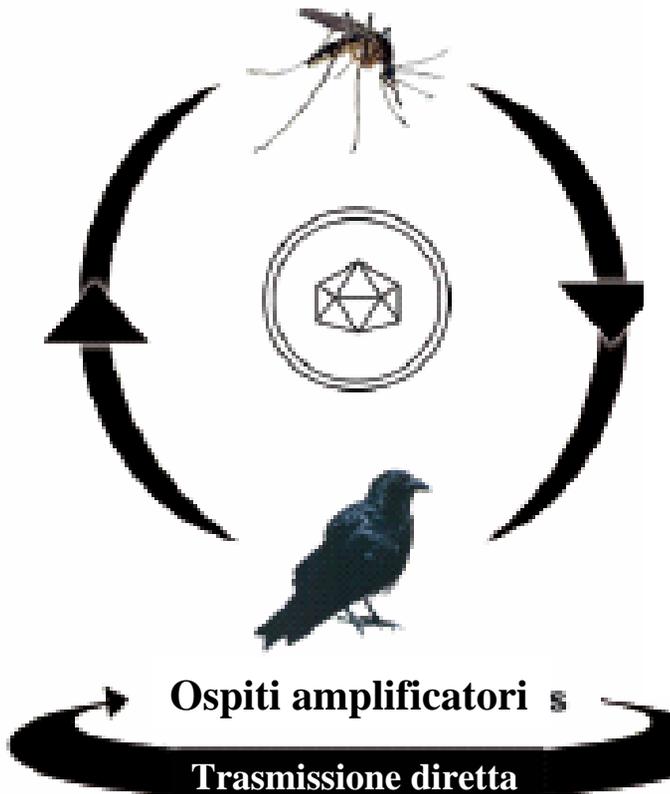
Vettore biologico/serbatoio
Zanzare del genere *Culex* e *Aedes*



Ai climi temperati l'infezione assume un **andamento stagionale**: il ciclo silvestre si attiva a mag.-giu. (comparsa zanzare). La carica virale aumenta progressivamente (circolazione tra i nidiacei, soggetti non immuni) nei mesi di luglio e agosto.

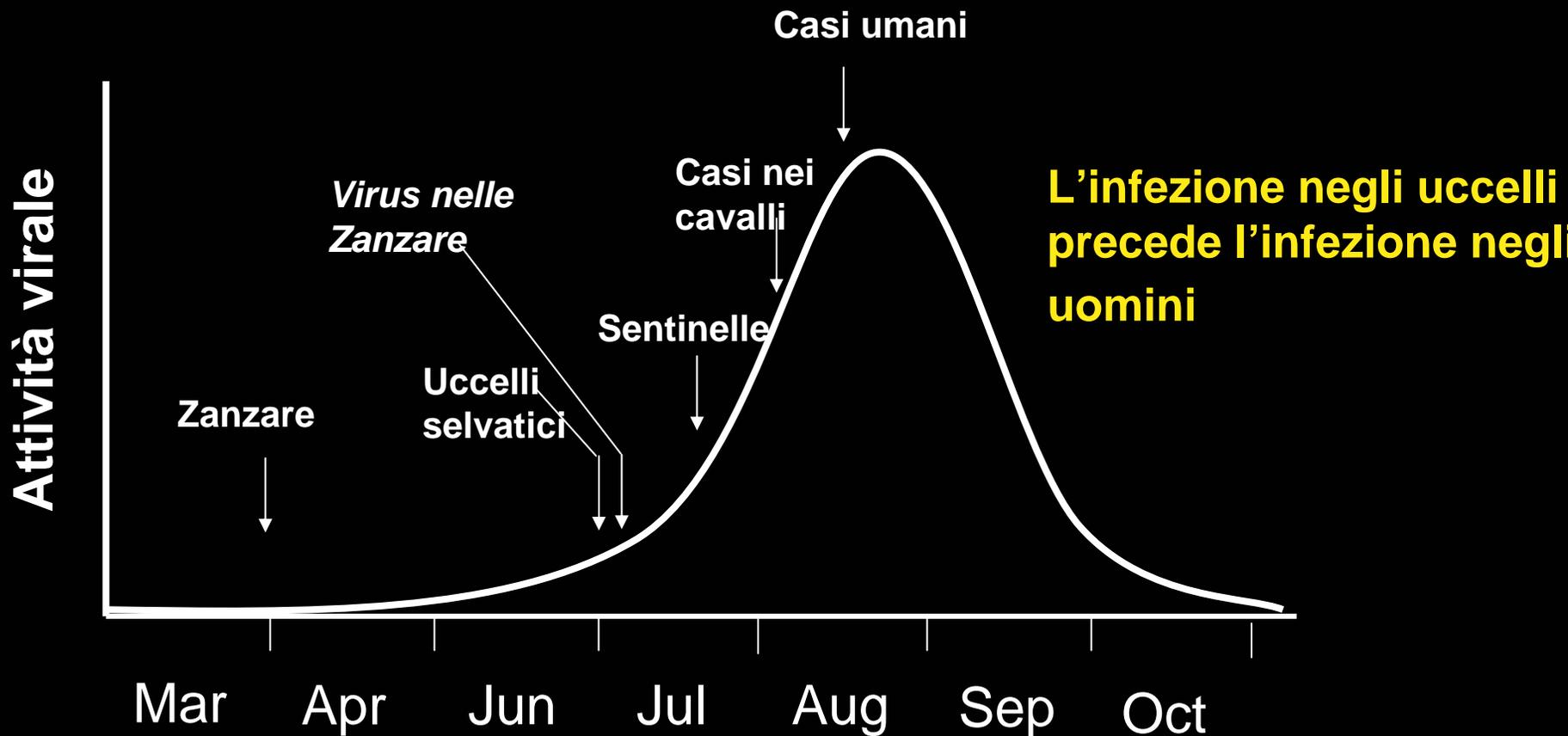
Virus West Nile: ciclo di trasmissione

Vettore biologico/serbatoio
Zanzare del genere *Culex* e *Aedes*

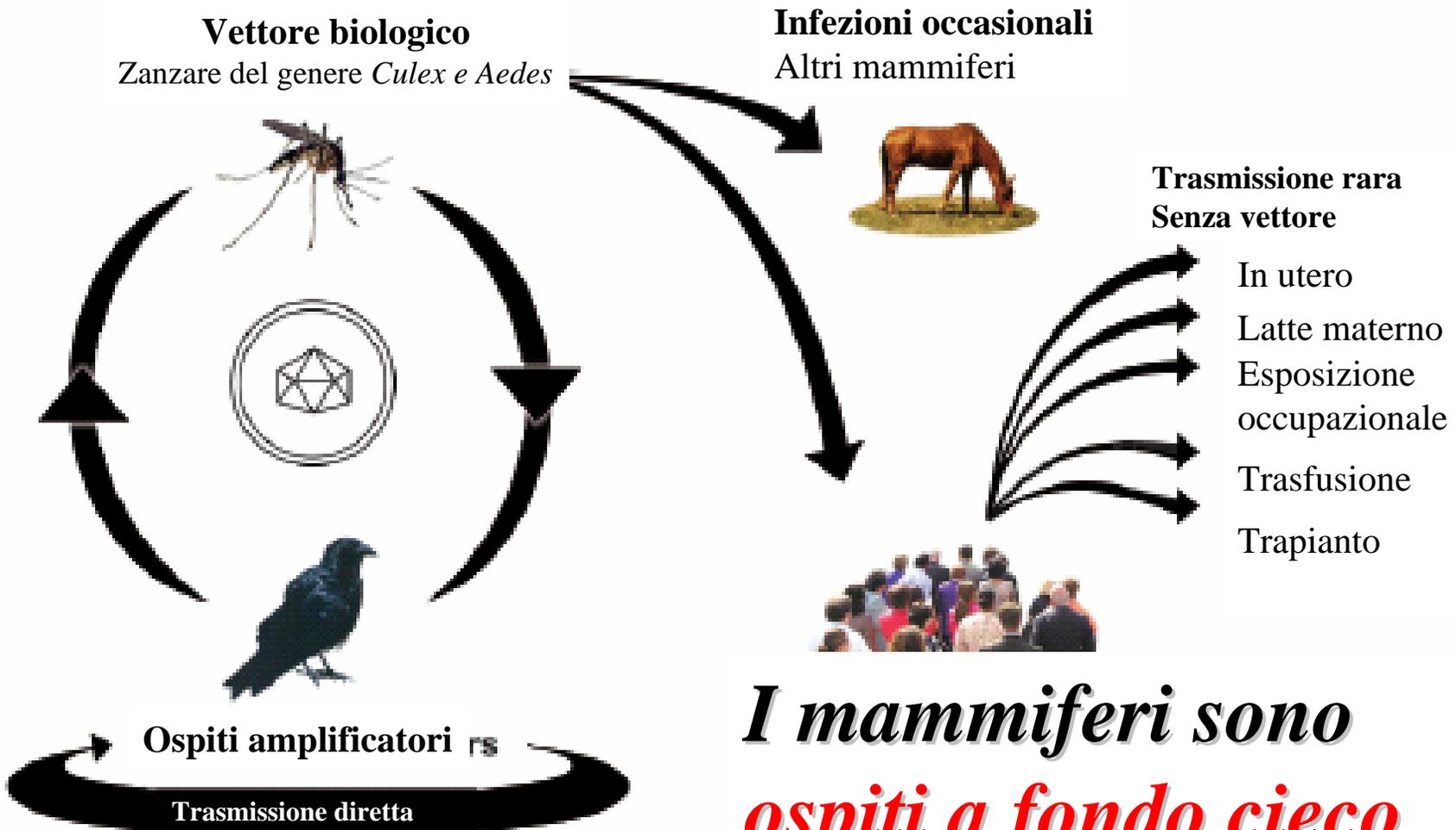


In determinate condizioni (non ancora chiarite) c'è talmente tanto virus nell'ambiente che inizia a circolare al di fuori del **ciclo naturale**. Quando ciò accade (da metà ago. a metà ott.), si iniziano a vedere sintomi.

Sorveglianza della WND: rilevazione degli eventi in funzione di un'ipotetica attività virale

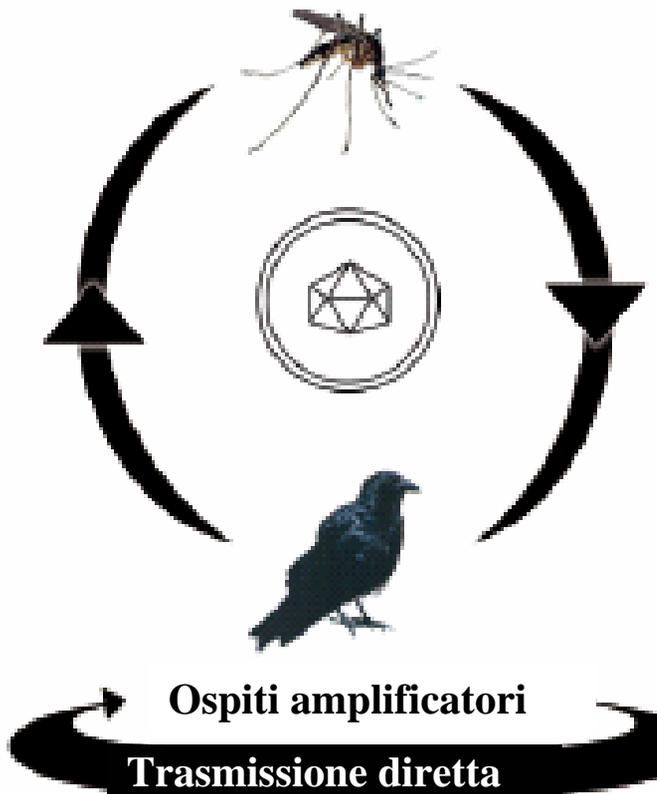


Virus West Nile: ciclo di trasmissione



Virus West Nile: overwintering

Vettore biologico/serbatoio
Zanzare del genere *Culex* e *Aedes*



Con l'abbassamento delle temperature, le zanzare smettono di volare e la circolazione virale cessa.

Il WN virus però **è in grado di riattivarsi** l'anno successivo:

- zanzare adulte svernanti
- trasmissione trans-ovarica
- ospiti a lunga viremia (rettili, anfibi)
- infezione cronica (uccelli)

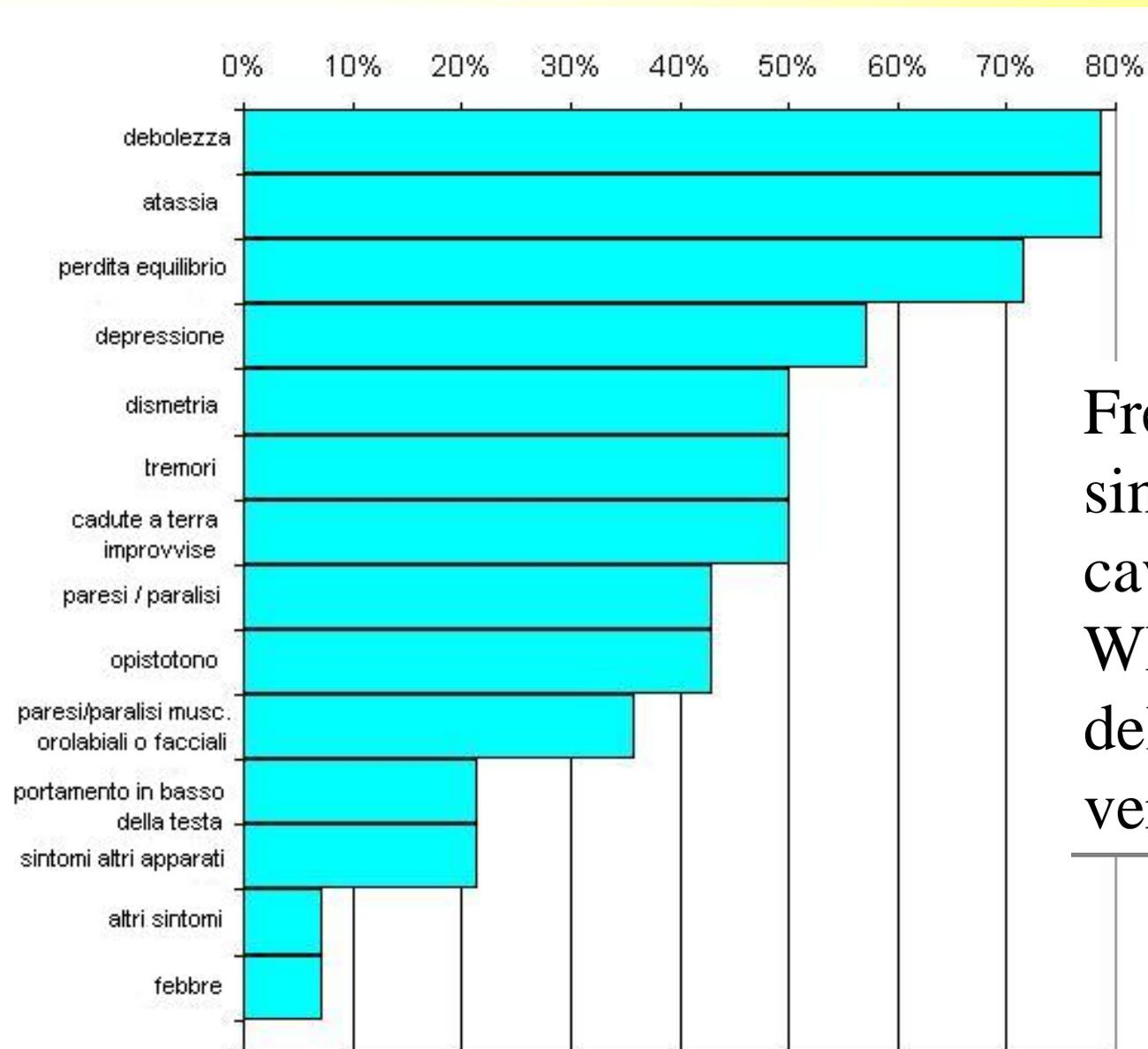
Sintomatologia negli uccelli

- ❑ Generalmente **asintomatici**
- ❑ Soggetti **giovani** più sensibili
- ❑ Sintomi neurologici (impossibilità di mantenere il capo eretto, letargia, atassia, postura inusuale) e deperimento
- ❑ Emorragie cerebrali, splenomegalia, meningoencefalite e miocardite
- ❑ **Morte** negli uccelli particolarmente sensibili (corvidi, cicogne, oche)
- ❑ Nei sopravvissuti si instaura una **immunità di lunga durata**

Sintomatologia negli equidi

- ❑ **Periodo di incubazione:** 3-15 g.p.i. (=uomo)
- ❑ **Morbilità:** <10% dei cavalli infetti
- ❑ **Letalità:** 30-40%
- ❑ Febbre, lacrimazione, astenia (viremia <6 gg)
- ❑ Atassia, debolezza, tremori, fascicolazioni, paralisi palpebrale, paraparesi, tetraplegia, digrignamento dei denti, cecità, morte
- ❑ Congestione delle meningi, emorragie, Encefalomyelitis non suppurativa, manicotti perivascolari, noduli gliali nella sostanza grigia, focolai di degenerazione neuronale e neuronofagia³

Sintomatologia negli equidi



Frequenza dei sintomi rilevati nei cavalli affetti da WND nel corso dell'epidemia verificatasi nel 1998

Iter diagnostico cavallo

siero/sangue con EDTA

Definizione di caso:

- *Isolamento virale positivo*
- *PCR positiva*
- *IgM pos e SN pos*
- *Sieroconversione o incremento del titolo SN di almeno 2 diluizioni*

Test di screening

IgG ELISA WN

POS

NEG

RT-PCR

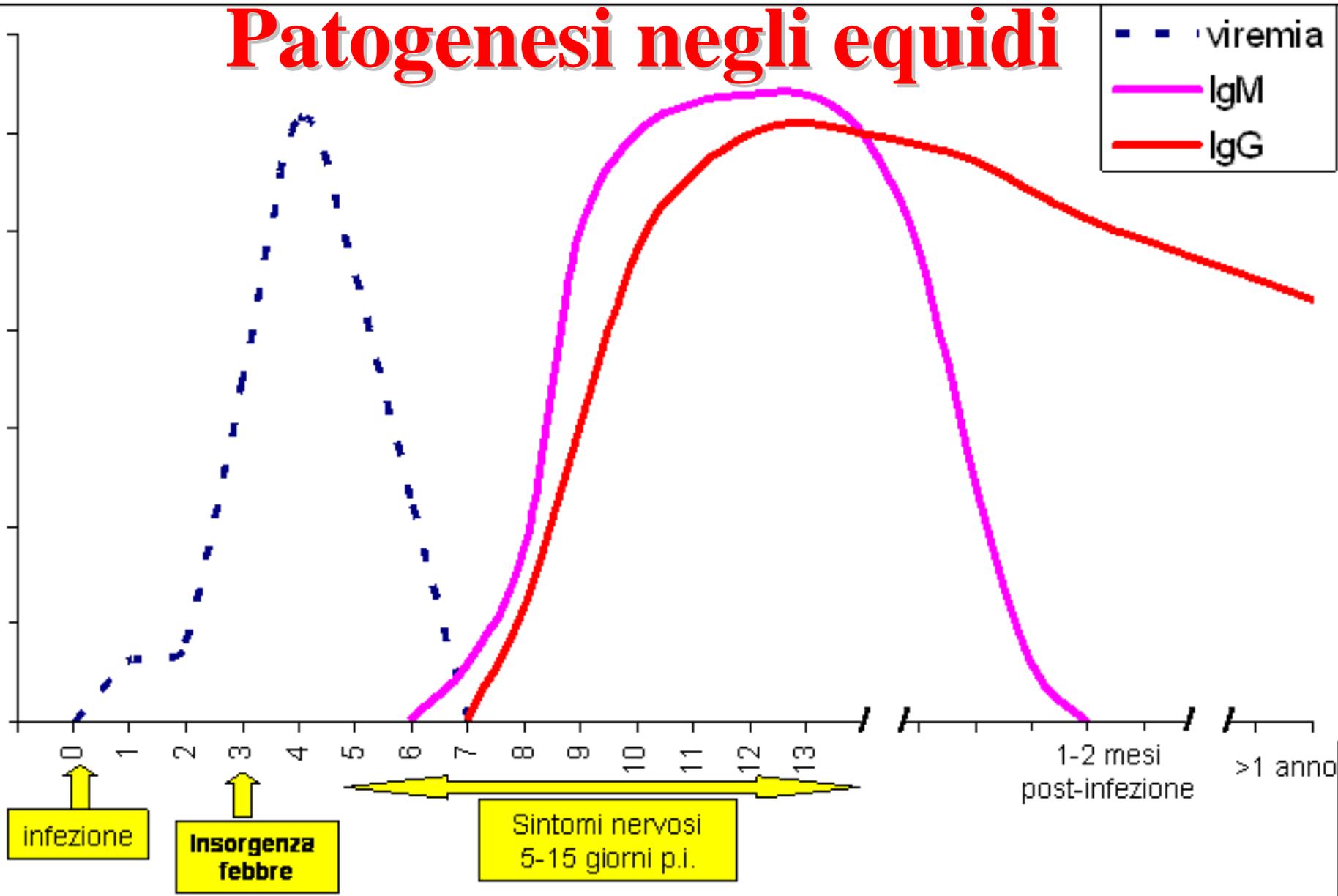
SN e PRN

**Isolamento
su VERO o
RK13**

IgM ELISA WN

STOP

Patogenesi negli equidi



• Le **misure di prevenzione**, come per tutte le malattie trasmesse da vettori, sono finalizzate ad impedire il contatto tra gli animali (e gli uomini) suscettibili e i vettori infetti.



Prevenzione WNV

- sono buone pratiche:
 - l'impiego di repellenti,
 - il ricovero notturno dei cavalli all'interno delle scuderie,
 - l'uso di ventilatori nelle scuderie,
 - spegnere le luci all'interno delle strutture, mantenendone al contempo altre accese lontane dalle strutture di ricovero degli animali,
 - mantenere gli uccelli fuori dalle scuderie e impedire la loro nidificazione in vicinanza o all'interno delle scuderie.

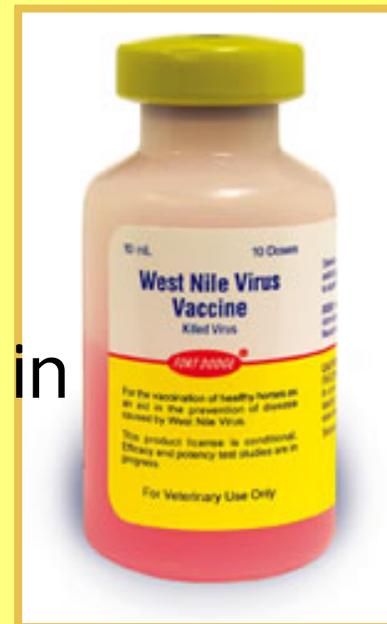


Prevenzione WNV



- Utile è anche la lotta al vettore attraverso trattamenti periodici,
- Più efficaci possono essere azioni quali:
 - la rimozione di possibili luoghi di riproduzione delle zanzare (raccolte di acqua stagnante, stagni, tombini, ecc.),
 - la pulizia e lo sfalcio della vegetazione circostante le strutture

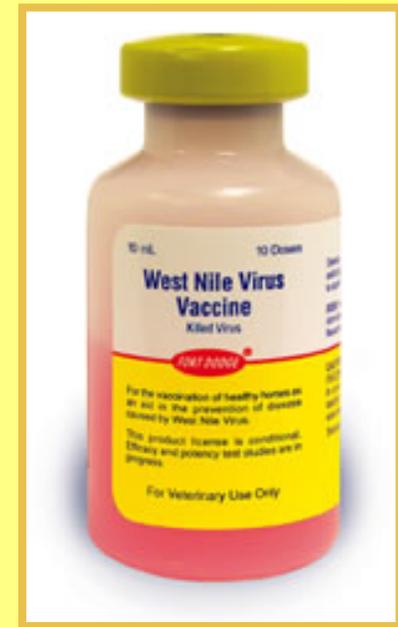
Vaccino WNV per Cavalli



- **Duvaxyn WNV (Fort Dodge)** registrato in Italia (in commercio da giugno)
 - Vaccino Spento
 - 2 dosi a 4-6 settimane di distanza (la seconda prima del 15 aprile)
 - Immunità dopo la seconda somministrazione
 - Richiamo annuale (semestrale in aree endemiche)
- **West Nile Innovator (Fort Dodge)** registrato in USA (importato su autorizzazione Min.Sal.)
 - **Non si può usare su cavalli DPA!!**

Vaccino WNV per Cavalli

- **Registrare** la vaccinazione sul passaporto
- **Compilare** il Mod. 12 (art.65 RPV)
- La vaccinazione con vaccino non registrato **è vietata** (oltre a causare interferenze con eventuali attività di monitoraggio sierologico).



IL PIANO NAZIONALE DI SORVEGLIANZA DELLA WND

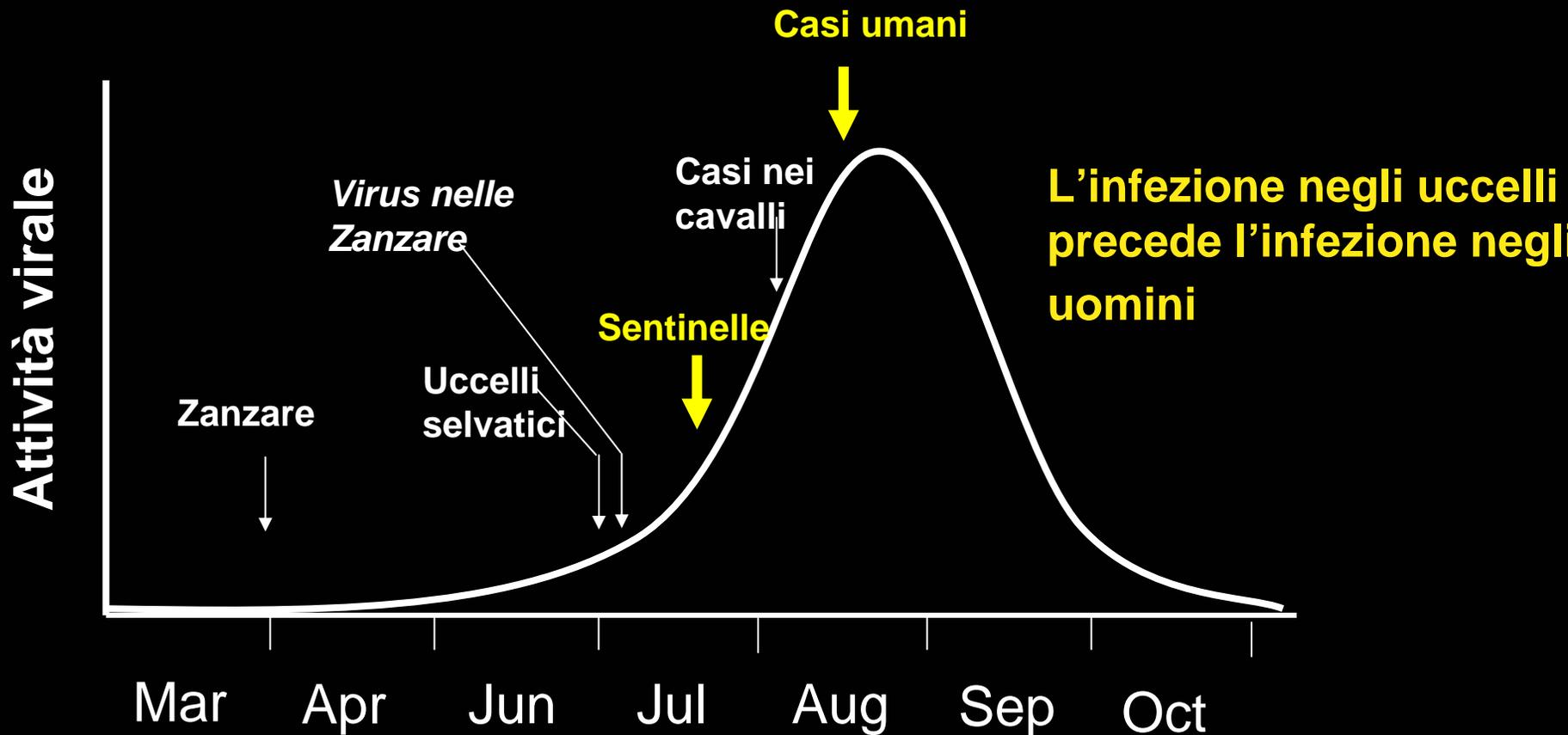
attivo dal 2002 con l'obiettivo di:

Individuare e monitorare le aree del territorio nazionale a rischio d'introduzione della malattia attraverso l'applicazione di :

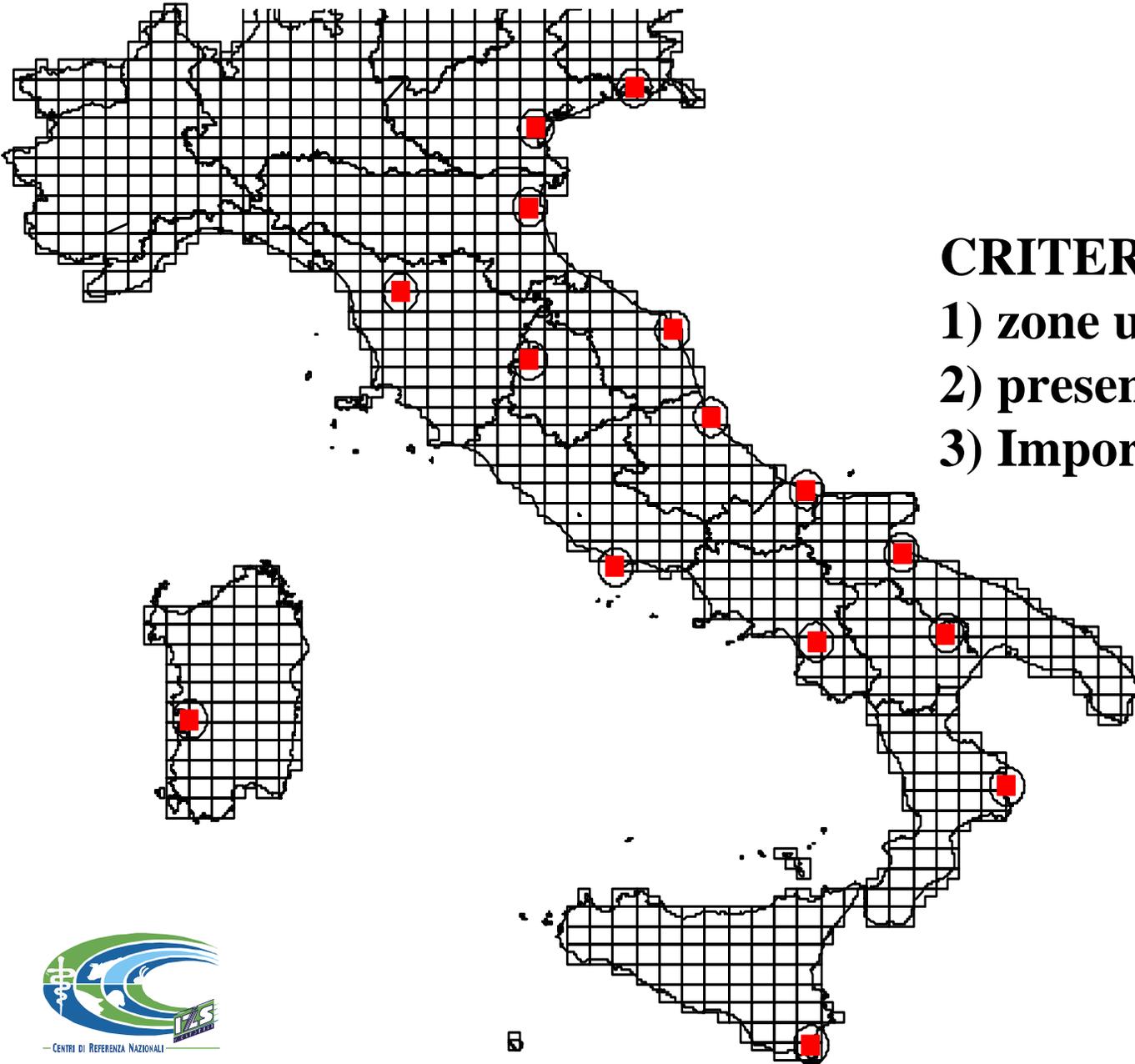
- 1) sorveglianza attiva su sentinelle (polli, cavalli)*
- 2) Sorveglianza passiva (cavalli, avifauna morta)*
- 3) un programma di sorveglianza entomologico*
- 4) un programma di sorveglianza nella popolazione umana (attivato in presenza di casi veterinari)*

Dal 2006 in ER Piano Sorveglianza integrativa su corvidi (gazze, cornacchie) abbattute nell'ambito di piani provinciali di controllo delle popolazioni

Sorveglianza della WND: rilevazione degli eventi in funzione di un'ipotetica attività virale



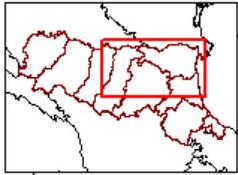
15 AREE D'INTERVENTO



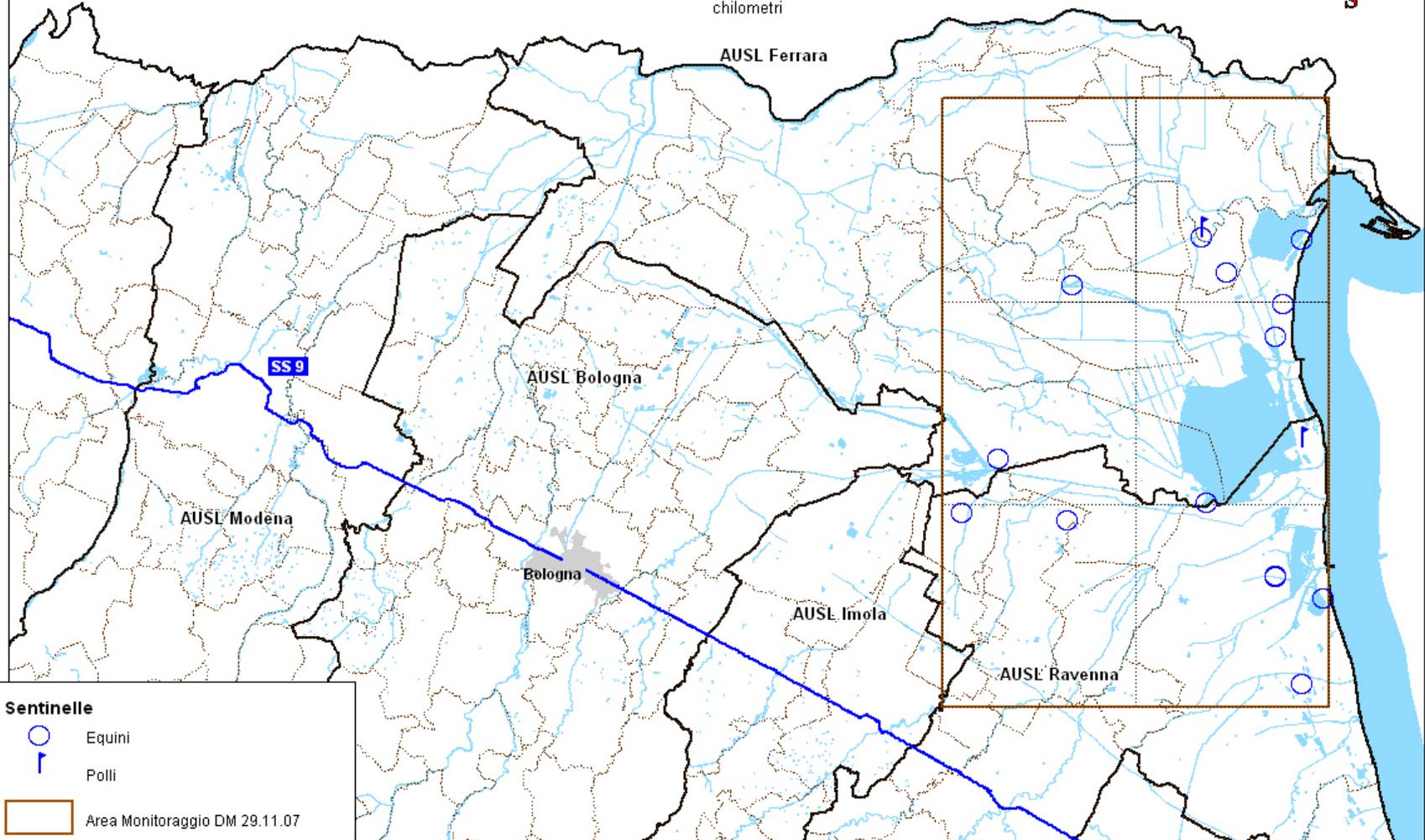
CRITERI:

- 1) zone umide
- 2) presenza uccelli acquatici
- 3) Important Birds Areas

DM 27/11/2007. Area di monitoraggio WND in Emilia-Romagna



0 10 20
chilometri



dati aggiornati al 15/01/2009

2

Sistema di allerta “rapido”

È basato su:

- Istituzione ed utilizzo di una **rete di polli sentinella** per WNV
- Sorveglianza sulle cause di **mortalità degli uccelli selvatici**
- Istituzione ed utilizzo di un sistema di **sorveglianza entomologica**
- Istituzione di un **sistema informativo telematico e di mailing list**



*Stazione polli sentinella
Ferrara 2008*

3 *VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DEL SISTEMA DI SORVEGLIANZA*

E' basato su:

- A) Monitoraggio sierologico di **cavalli sentinella** (primavera-autunno)
- B) Controllo per WND dei **casi clinici** (cavalli con sintomatologia neurologica)



4

Sorveglianza integrativa su corvidi catturati

- Dal 2006 è attivo in Emilia-Romagna un piano di monitoraggio sulla fauna selvatica, necessario per l'accreditamento delle aziende suine come esenti da trichinella (Reg.CE 2075/2005).
- Il piano reg. individua come animali indicatori per trichinella: cinghiali, volpi e **corvidi** (gazze e cornacchie) abbattuti nei piani provinciali di controllo.
- Organi degli animali esaminati per trichinella (50 per provincia) devono essere inviati al CESME per l'esame virologico WND.

Sintesi dei risultati dei piani di sorveglianza WND in Emilia-Romagna 2002-2007

Anno	positività in polli sentinella	positività in cavalli sentinella	Note
2002	No	Sì	3 cavalli di 3 aziende di Ravenna (FdC 1:4)
2003	Sì	No	Polli: + ELISA
2004	Sì	No	Polli: + ELISA
2005	Sì	Sì	Polli: + ELISA/SN - cavalli: 1 sentinella di Ravenna (SN 1:10)
2006	No	No	
2007	Sì	Sì	Polli: + ELISA/SN a Ravenna [Usutu] - cavalli: 1 sentinella di Ferrara (SN 1:10)

- Positività sia nei polli, sia nei cavalli sentinella



***Epidemia West Nile 2008
In Emilia-Romagna***



L'epidemia 2008

8 Set.2008 IZSLER segnala positività ELISA su siero di cavallo di Ferrara con sintomi nervosi prelevato il 22 agosto.

12 Set. Il CESME di Teramo conferma la positività del cavallo

12 Set. IZSLER segnala isolamento di virus WN da gazza abbattuta in provincia di Ferrara il 12 agosto.

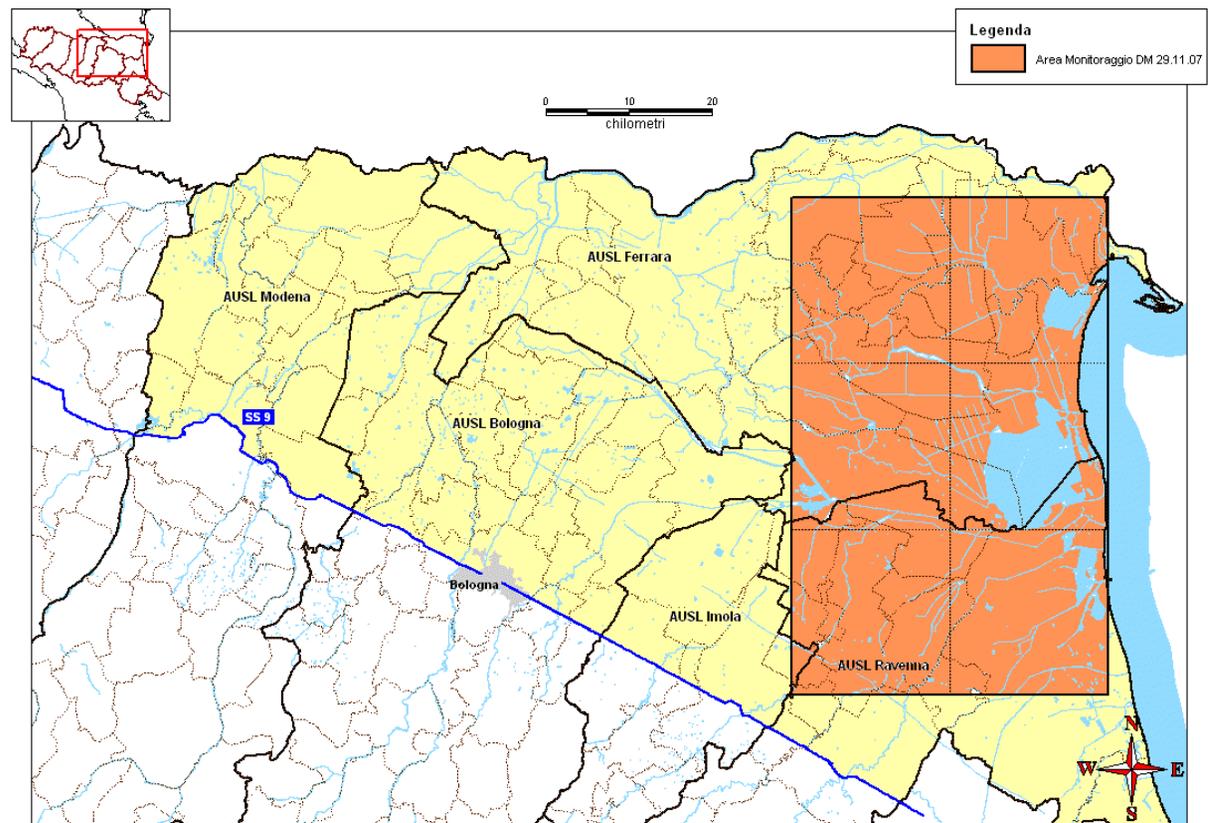
15 Set. *Piano regionale straordinario*

Attività straordinarie in ER

- **Programma di sorveglianza straordinaria per delimitare l'area coinvolta dalla circolazione virale**
 - Definizione dell'**area** di intervento
 - Intensificazione della **sorveglianza passiva** sugli equidi
 - Intensificazione delle attività di monitoraggio sull'**avifauna selvatica**
 - Anticipazione dei controlli sulle sentinelle WN
 - Esame sierologico per WND dei bovini sentinella BT
 - Sorveglianza sierologica sugli equidi (Piano AIE)
 - Intensificazione della sorveglianza entomologica
 - **Bollettino** per diffondere informazioni

Zona a rischio in cui attivare la sorveglianza veterinaria straordinaria

- Il territorio della provincia di Ferrara e il territorio delle province di Bologna, Ravenna e Modena a Nord della via Emilia (SS9).



Componenti della sorveglianza straordinaria veterinaria

1. Sorveglianza "passiva" sui cavalli: individuazione casi con sintomi (tutta la Regione)



Attività di sensibilizzazione dei Veterinari LL.PP.

- linee di indirizzo a veterinario curante
- Nessun provvedimento per aziende con casi sospetti
- incontri di aggiornamento

Definizione di caso

(OM 5/11/2008)

• **Equide sospetto di WND**: un equide che, nel periodo di attività dei vettori, presenta sintomatologia riferibile a encefalomielite o morte improvvisa in area a rischio.

Deve essere considerato sospetto anche un risultato sierologico positivo in assenza di sintomatologia clinica.

• **Caso confermato di WND**: quando i campioni prelevati dall'equide sospetto risultano positivi a uno o più esami di conferma da parte del CESME

Definizione di caso

(OM 5/11/2008)

- **Positività recente e autoctona:** una positività (equide) confermata per la quale dall'indagine epidemiologica e dal quadro degli esami diagnostici si può presumere che l'infezione sia la conseguenza della circolazione del virus nel luogo in cui è stato tenuto l'animale negli ultimi due mesi.

Definizione di caso: Cosa è **recente**?

- **Equidi:**
 - Caso clinico confermato da prove di laboratorio
 - Sieroconversione
 - Positività virologica (isolamento/PCR)
 - Positività sierologica in puledro >6 mesi nato nell'anno
 - Positività sierologica confermata con presenza di IgM
- **Uccelli selvatici:** positività virologica
- **Uccelli domestici:** sieroconversione in polli sentinella

Piano straordinario WND

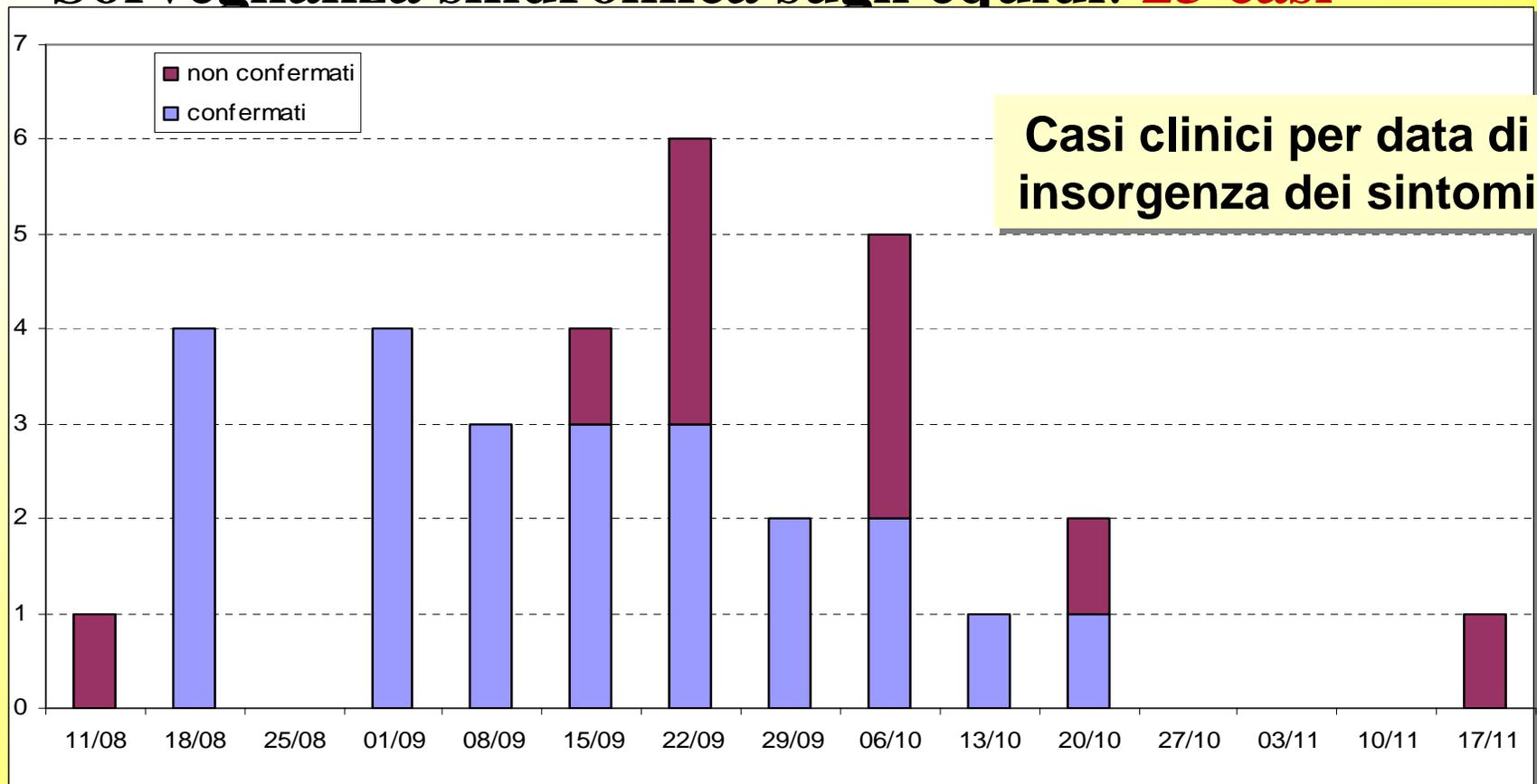
- Sorveglianza sindromica sugli equidi: **33 sospetti, 23 casi confermati da 15 aziende**

Casi clinici segnalati ufficialmente (tra parentesi i decessi, compresi i soggetti sottoposti a eutanasia)

Provincia	Confermati	Sospetti (positivi ELISA in attesa di conferma dal CESME)	Possibili (senza esiti di prove diagnostiche)	Non confermati (Negativi alle prove diagnostiche)
BO	6 (1)			4 (2)
FE	16 (2)			1 (0)
FC				1 (0)
MO	1 (0)			1 (1)
PC				1 (0)
PR				1 (1)
RN				1 (0)
Totale	23 (3)	0 (0)	0 (0)	10 (4)

Piano straordinario WND

- **Sorveglianza sindromica sugli equidi: 23 casi**



- **Controlli sierologici in scuderie con casi confermati: 49.1% in SN (233/475; 15 aziende)**

Componenti della sorveglianza straordinaria veterinaria

2. Sorveglianza “attiva” sui cavalli: indagine sierologica in zona a rischio (anticipando i prelievi dei cavalli “sentinella” e abbinando prelievi anemia infettiva)

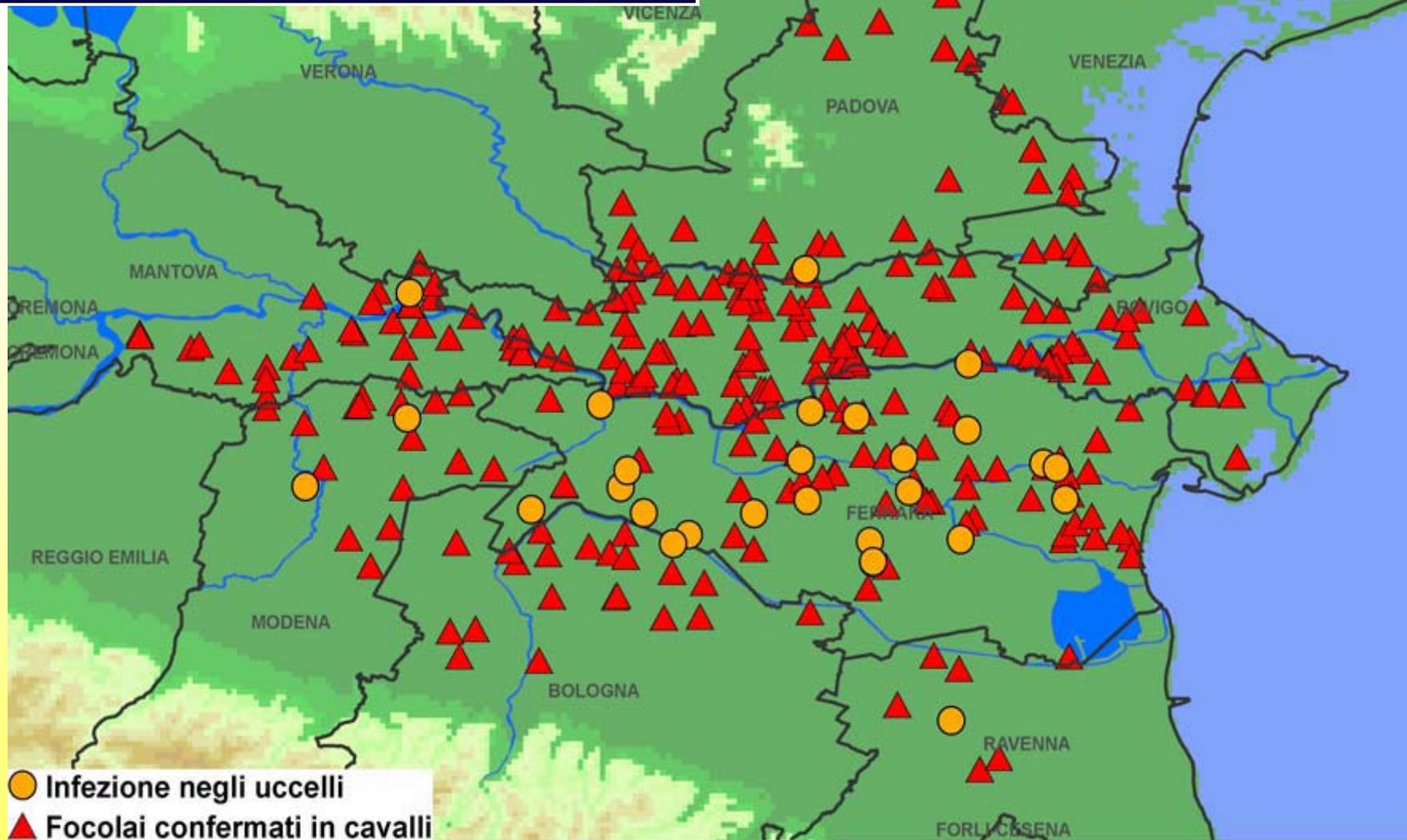
- 
1. Registrazione e georeferenziazione in BDN aziende equine
 2. Ricontrollo delle 14 aziende con cavalli sentinella
 3. Monitoraggio sierologico in concomitanza con il controllo AIE
 4. Ricontrolli sierologici in aziende con sieropositività (rilevazione eventuali sieroconversioni)



West Nile Disease

N. 59

18 Marzo 2009 ore 11:00



Bollettino CESME del 18/03/09 www.izs.it



Epidemia 2008

Cavalli: dati sulle aziende positive

Provincia	N. focolai	N. focolai con sintomatologia clinica	Cavalli			
			Presenti	Casi clinici	Casi totali	Morti
Ferrara	63 [#]	10	600	16	117 [#]	2
Ravenna	5 [#]	0	54	0	5 [#]	0
Bologna	20	4	353	6	47	1
Modena	14	1	219	1	21	0
Rovigo	99	1	357	1	213	0
Padova	25	1	103	1	41	0
Venezia	9	0	59	0	21	0
Mantova	36	1	156	7	85	2
TOTALE	271	18	1901	32	550	5

(*) esami in corso

sieroconversioni: 8 cavalli in 3 aziende a Ferrara; 1 cavallo in 1 azienda a Ravenna

Cavalli: monitoraggio WND 2008

- **Sorveglianza attiva su campioni piano AIE in ER**

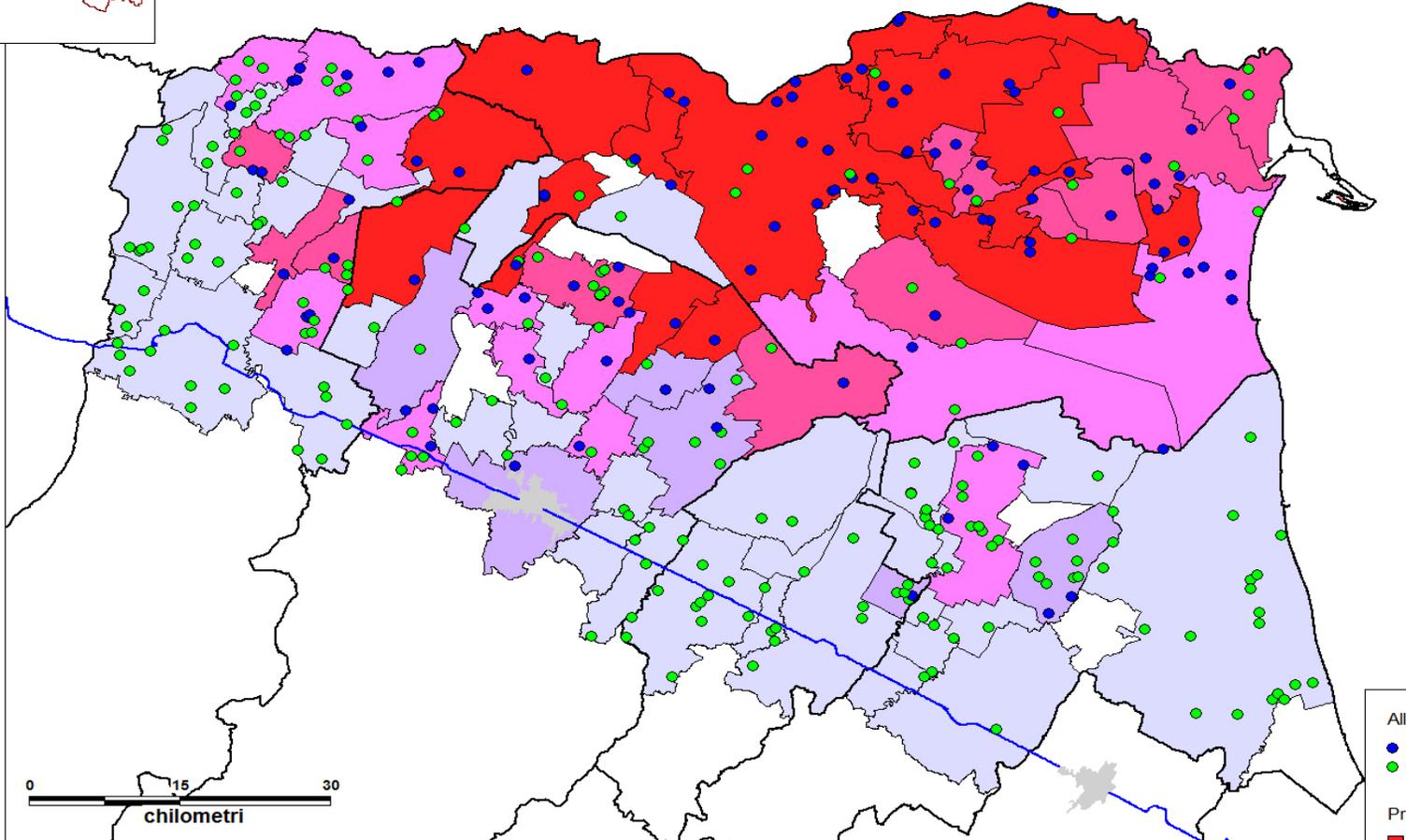
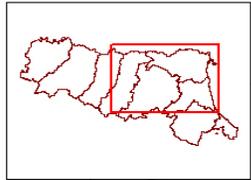
Provincia	Aziende esam.	Campioni esaminati	Aziende positive confermate	Campioni positivi (SN)	% camp. pos.
Bologna	112	582	20	52	8,9%
Ferrara	80	228	50	90	39,5%
Modena	87	293	14	25	8,5%
Ravenna	56	194	4	8	4,1%
Totale	335	1297	88	175	13,5%

Sieroprevalenza: Fucecchio '98: 35.7%; Camargue F '00: 8.5%; Var F '03: 34%

- **WND nei Cavalli (Epidemia 2008)**

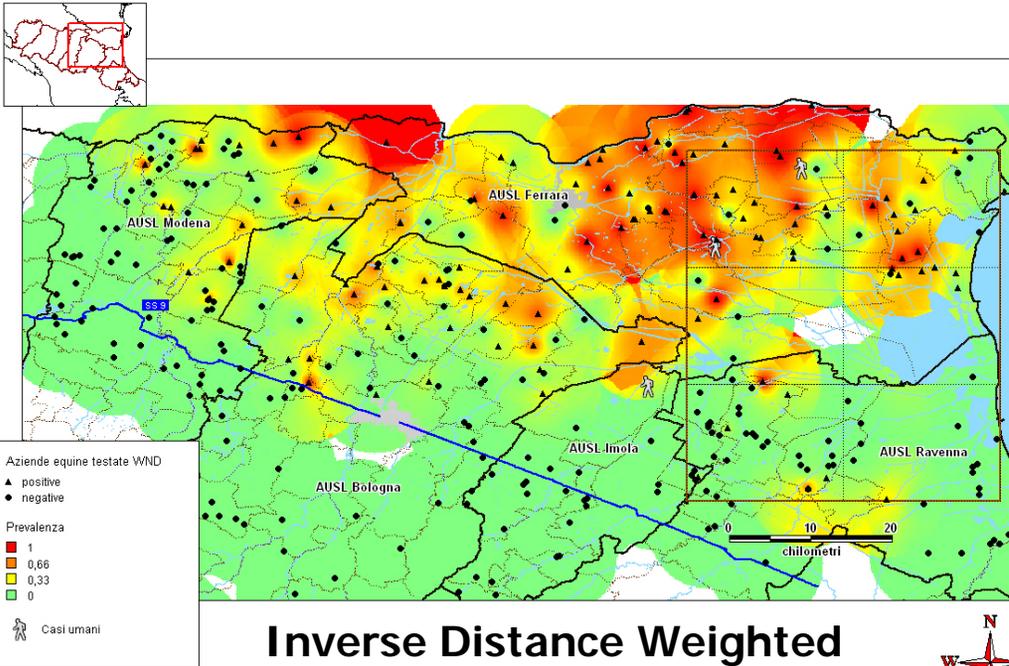
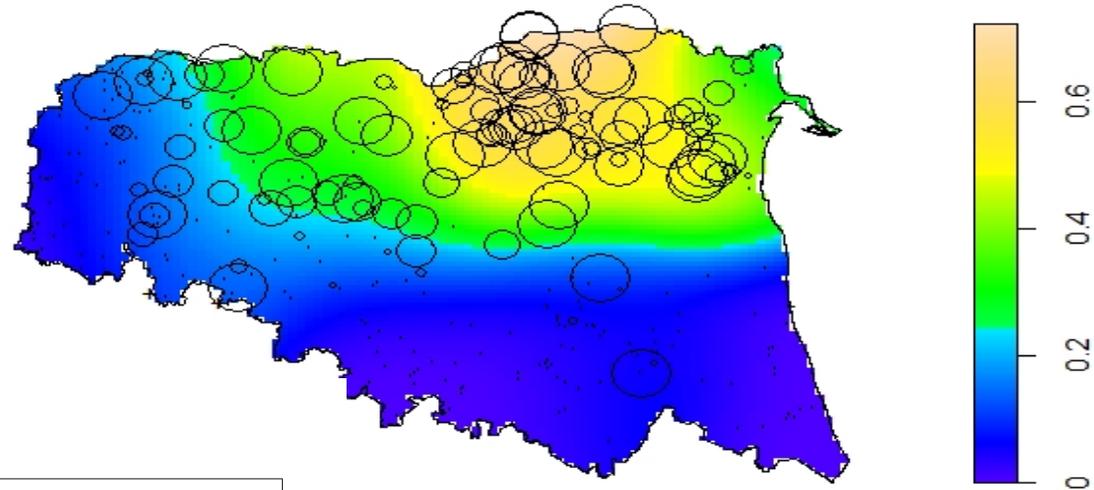
- **Incidenza di casi clinici 5.8% (32/550) [rif.: <10%]**
- **Basso indice di letalità 15.6% (5/32) [rif.: 25-40%]**

Monitoraggio cavalli sieroprevalenza per comune



Allevamenti equini	
● positivi (113)	
● negativi (208)	
Prevalenza	
■ 0,5 - 1	(17)
■ 0,25 - 0,5	(12)
■ 0,1 - 0,25	(12)
■ 0 - 0,1	(6)
■ 0	(34)

Monitoraggio cavalli (Densità di prevalenza)



Aziende equine testate WND
▲ positive
● negative

Prevalenza
■ 1
■ 0,66
■ 0,33
■ 0

👤 Casi umani

Inverse Distance Weighted Interpolation - IDW

L'analisi spaziale dei dati indica che la circolazione virale:
- è partita dal Po
- è rimasta limitata all'area a rischio

Componenti della sorveglianza straordinaria veterinaria

3. Sorveglianza sierologica sui bovini (prelievi in aziende sentinelle bluetongue presenti in zona a rischio)

4. Sorveglianza attiva su polli sentinella e trappole vettori (come da DM 29/11/2007)



Stazioni di Ferrara e Ravenna

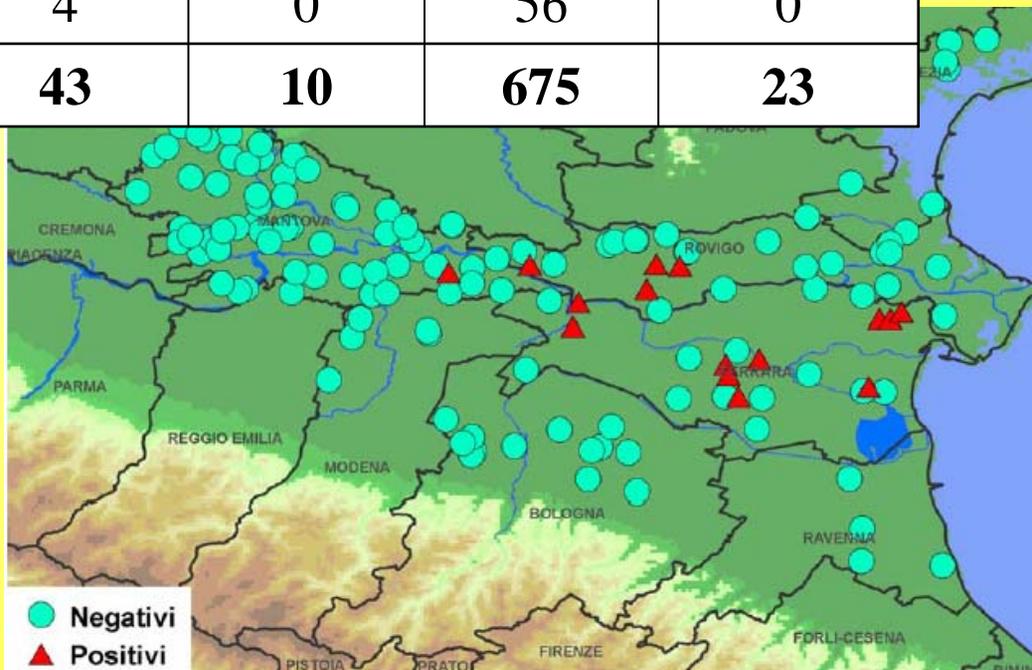
Attività piano straordinario WND

- Sorveglianza attiva su sentinelle bovine piano BT

Provincia	Aziende esistenti	Capi sentinella	Aziende controllate	Aziende positive	Capi controllati	Capi positivi SN
Modena	5	85	3	0	36	0
Bologna	17	254	13	0	183	0
Ferrara	23	405	23	10	400	23
Ravenna	10	127	4	0	56	0
Totale	55	871	43	10	675	23

Il monitoraggio sierologico dei bovini appare metodo meno sensibile del monitoraggio degli equidi per rivelare la circolazione del WNV.

Nel bovino positività a basso titolo in SN (1:5 – 1:40) per max 2 mesi





Attività previste dal piano WND

- **Polli sentinella: 2 stazioni**

Stazione 005FE022. Prelievi quindicinali di 10 soggetti dal 15/04/08 al 11/11/08.

- Tutti i campioni prelevati sono risultati negativi in ELISA e PCR (ultimo prelievo negativo 18/09/08)
- Un pollo morto il 15/09/08 **positivo in PCR**
- Sieroconversione sui campioni prelevati il 02/10/08
- Al 11/11/08: **9/19 polli positivi** in SN

Stazione 014RA087. Prelievi quindicinali di 9-10 soggetti dal 30/04/08 al 03/11/08.

- Tutti i campioni prelevati sono risultati negativi in ELISA e PCR

Componenti della sorveglianza straordinaria veterinaria

5. Sorveglianza attiva sui volatili selvatici (corvidi)

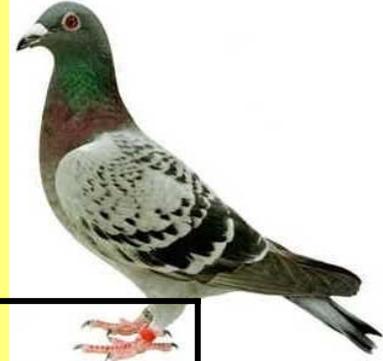
- **150 soggetti** per provincia nelle province di Ferrara, Ravenna, Bologna e Modena, preferibilmente provenienti da territori a nord della via Emilia
- **50 soggetti** per provincia dalle restanti province, tutti possibilmente provenienti da zone di pianura.

6. Segnalazione mortalità anomale in volatili selvatici

- Il piano regionale di monitoraggio nella fauna selvatica attivo dal 2006 prevede il conferimento di soggetti trovati morti a IZS
- In seguito ai focolai WND da parte delle AUSL e della Regione è stata richiamata l'attenzione sul piano ed è stata svolta attività di sensibilizzazione alle Province sul problema tramite lettere e riunioni



Uccelli selvatici: monitoraggio WND



Specie	PCR + /esam.	% pos
Gazza	22/241	9.1%
Cornacchia	7/95	7.4%
Ghiandaia	2/14	14.3%
Piccione	12/93	12.9%
Storno	0/11	0.0%
Cormorano	1/7	14.3%
Gabbiano	1/3	33.3%

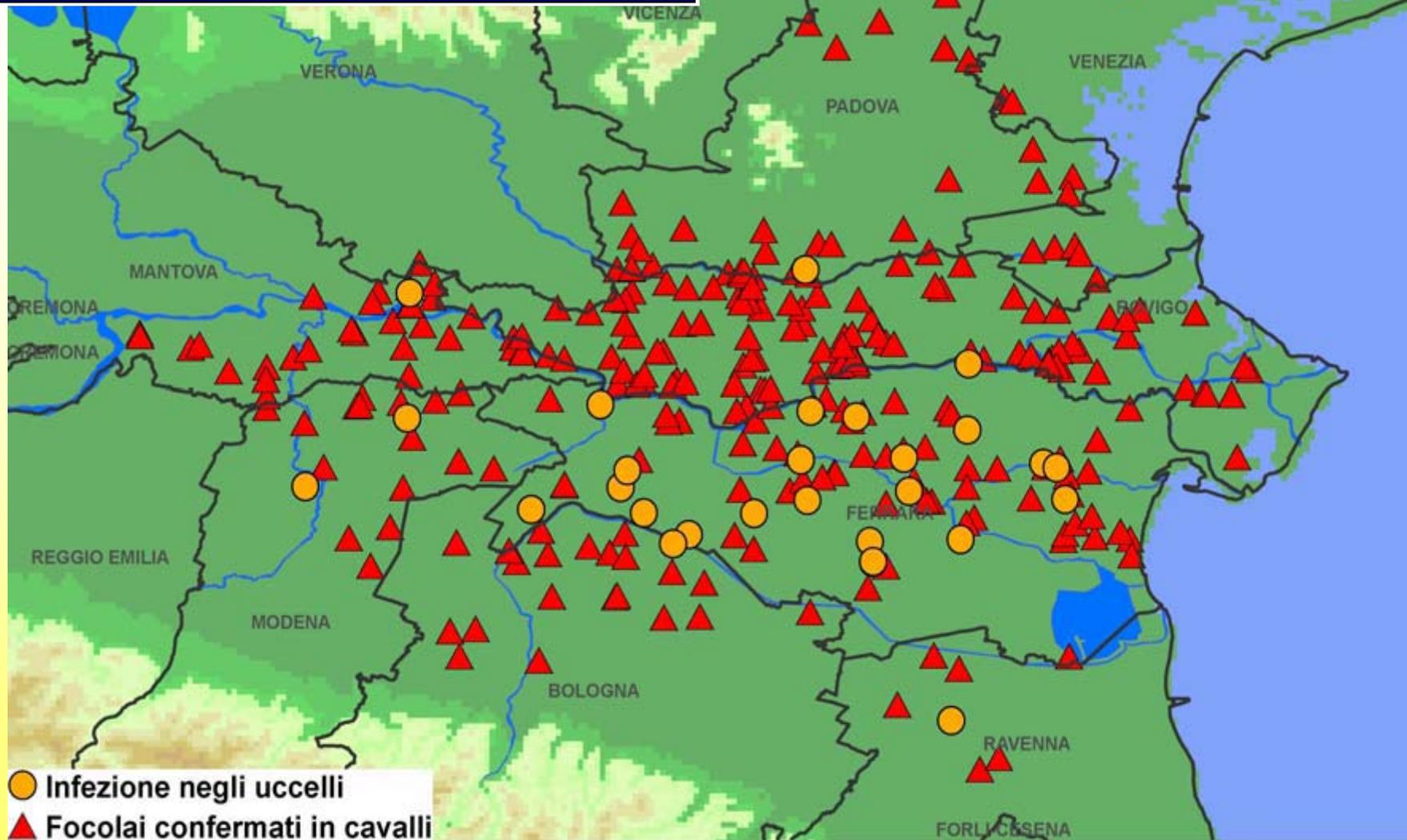
Positività in PCR dal 12/08/08 al 17/10/08



West Nile Disease

N. 59

18 Marzo 2009 ore 11:00



Bollettino CESME del 18/03/09 www.izs.it

Piano WND 2009

- COSA CAMBIA?

Finalità della sorveglianza veterinaria

Individuare le aree con circolazione virale per attivare la sorveglianza sull'uomo e misure di prevenzione per la popolazione e fornire informazioni utili per la protezione degli equidi



sorveglianza integrata medico-veterinaria

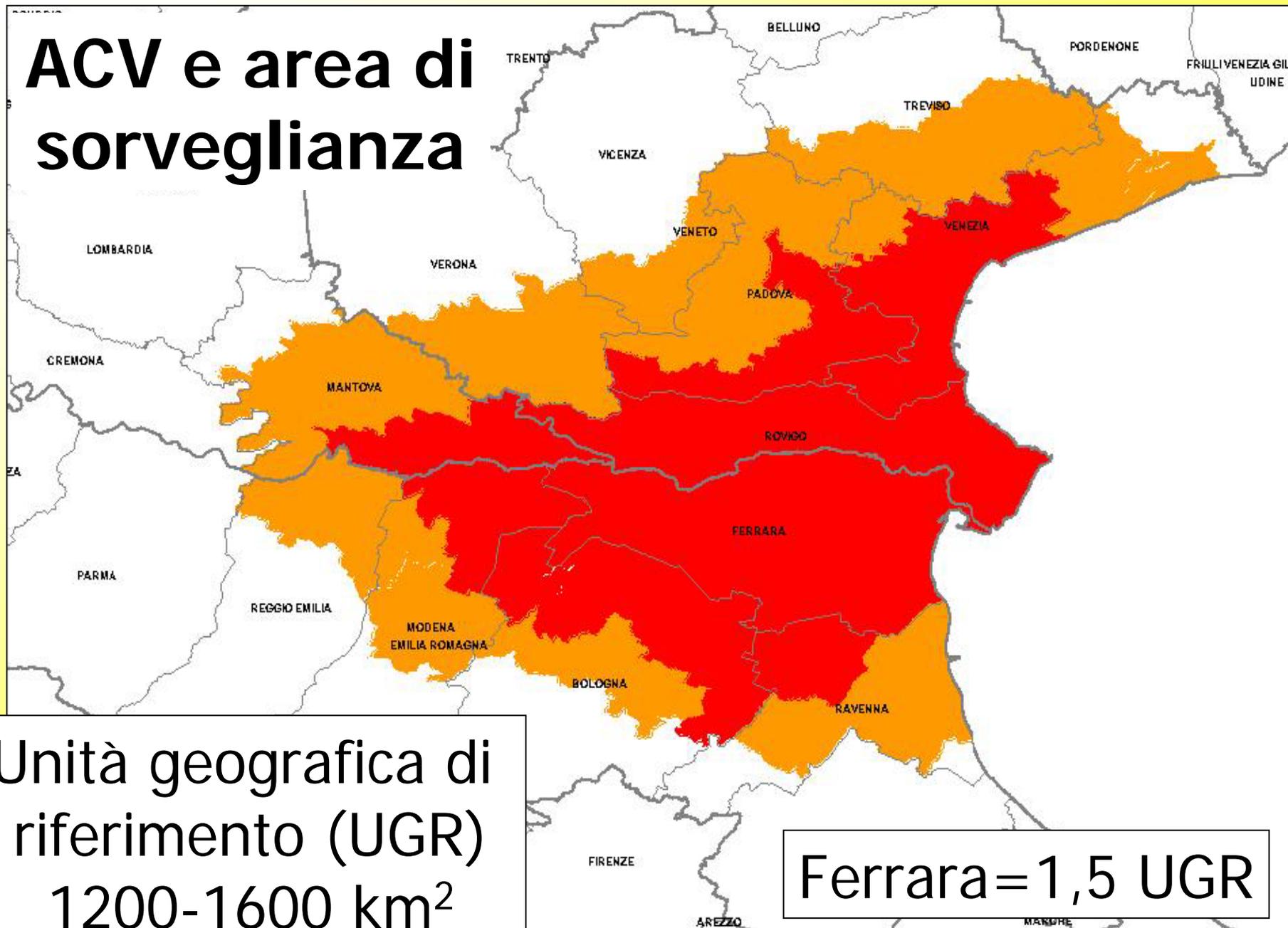
Obiettivi

- 1. Individuare precocemente la circolazione del virus**
- 2. Rilevare il passaggio del virus dagli uccelli ai mammiferi e l'aumento di rischio per l'uomo**
- 3. Verificare la persistenza e possibile endemizzazione dell'infezione**
- 4. Attività di studio**

Aree territoriali

- **Area con circolazione virale (ACV):** Area interessata dalla circolazione virale del 2008
- **Area di sorveglianza** esterna alla ACV: estesa per un raggio di 20 km intorno ai casi verificatisi nelle zone più esterne
- Resto del territorio nazionale ("**14 aree a rischio**") – no Emilia-Romagna)

ACV e area di sorveglianza



Unità geografica di riferimento (UGR)
1200-1600 km²

Ferrara = 1,5 UGR

Obiettivo 1. Individuazione precoce della circolazione del virus

- **controlli in uccelli sinantropici**
(cornacchie grigie, gazze, ghiandaie, storni, piccioni) [almeno 100 per UGR]
in alternativa
- **controlli in allevamenti avicoli all'aperto**
in alternativa
- **controlli in polli sentinella**

Obiettivo 2. Rilevare il passaggio del virus dagli uccelli ai mammiferi e l'aumento di rischio per l'uomo

- **Sorveglianza clinica** (o passiva) in equidi [estesa a tutto il territorio nazionale]
- **Sorveglianza su cavalli sentinella** [in area di sorveglianza: 28 per UGR; controlli in primavera, fine ago., fine set.]

Positività in uccelli sinantropici

- **Intensificazione della sorveglianza entomotologica e nell'uomo**

Casi clinici in cavalli

- **Rappresentano un elemento significativo nella valutazione del quadro epidemiologico complessivo al fine dell'adozione di misure di sanità pubblica relative a:**
 - trattamenti adulticidi nei confronti di insetti vettori
 - restrizioni/controlli per donazioni di sangue e organi

Conclusioni

- La WND è una **zoonosi trasmessa da vettori**;
- La **riemergenza** del WNV non deve sorprendere, ma spesso coglie impreparati;
- Esistono le condizioni la **endemizzazione** del WNV in Italia (lungo il Po);
- Attività di **Sorveglianza veterinaria** sono essenziali per la presa di decisioni “pesanti” di Sanità Pubblica (trasfusioni, trapianti);
- Motivazione, formazione, procedure -> Diagnosi precoce (uomini e animali).

*Vuoi provare un balsamo
alle erbe mistiche?*

**DDT!
DDT!**



WEST NILE VIRUS SURVEILLANCE IN MOSQUITOES IN EMILIA- ROMAGNA (ITALY)

Mattia Calzolari¹, Paolo Bonilauri¹, Francesco Defilippo¹, Giulia Maioli¹, Romeo Bellini², Rodolfo Veronesi², Alessandro Albieri², Paola Angelini³, Ilaria Barbieri¹, Davide Lelli¹, Antonio Lavazza¹, Marco Tamba¹, Vittorio Sambri⁴, Michele Dottori¹.

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna
"B.Ubertini", Brescia

² Centro Agricoltura Ambiente "G. Nicoli", Crevalcore (BO)

³ Regione Emilia-Romagna, DG Sanità e Politiche Sociali

⁴ Centro di Riferimento Regionale per le Emergenze Microbiologiche, Bologna

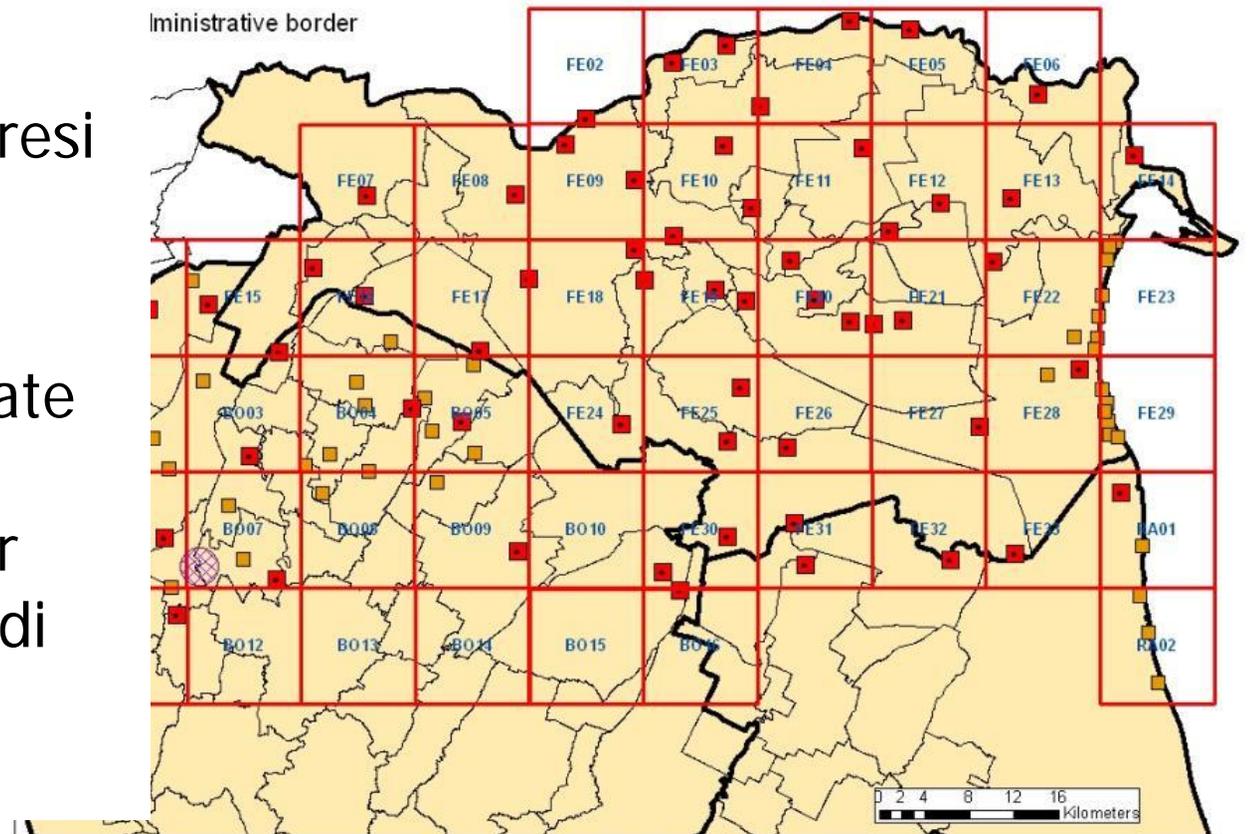
Piano straordinario 2008

Nel 2008 sono state analizzate zanzare raccolte dal 12/06 al 23/10 in **78** diversi siti di cattura:

- **19** siti nei Lidi Ferraresi
- **21** siti nella Bassa Bolognese
- **38** stazioni posizionate in scuderie con casi clinici o positività per WNV nelle province di Ferrara e Modena

	Stes	Period
Lidi Ferraresi	19	12/06-3/10
Bassa Bolognese	21	31/07-1/10
WN extra samples	38	17/9-23/10
Total	78	

Monitoring
w CO2
oric CO2 Traps
Administrative border



Zanzare analizzate

- ✘ Le zanzare sono state raccolte per specie, data di raccolta e località e sono state analizzate in PCR sia con RT-PCR per genere Flavivirus, sia con WNV Real Time PCR
- ✘ I frammenti amplificati dei pool positivi RT-PCR (parte del gene NS5) sono stati sequenziati
- ✘ E' stato tentato l'isolamento da uova embrionate e con colture cellulari (Vero, BHK21, RK13, C6/C36) da tutti i pool PCR positivi .

Zanzare analizzate

2007: 1.709 mosquitoes (81 pools)

	<i>Culex pipiens</i>	<i>Ochlerotatus caspius</i>	<i>Aedes albopictus</i>	<i>Ochlerotatus detritus</i>
Lidi Ferraresi	543 31	1060 44	101 7	5 3

2008: 38.791 mosquitoes (603 pools)
on a total out of 46.334 mosquitoes

	<i>Culex pipiens</i>	<i>Ochlerotatus caspius</i>	<i>Aedes albopictus</i>	<i>Anopheles maculipennis</i>	<i>Culex modestus</i>	Other species*
Lidi Ferraresi	8697 88	6956 81	250 10	177 2	7 3	30 10
Bassa Bolognese	10259 65	144 8	128 8			
Strordinarie WN	5976 158	6013 139	150 27	2 2		2 2
Total	24932 311	13113 228	528 45	179 4	7 3	32 12

* *Aedes vexans*, *Anopheles plumbeus*, *Ochlerotatus detritus*, *Culiseta* spp.

Culex pipiens, *Ochlerotatus caspius*, *Aedes albopictus*
Sono le specie più sottoposte ad analisi

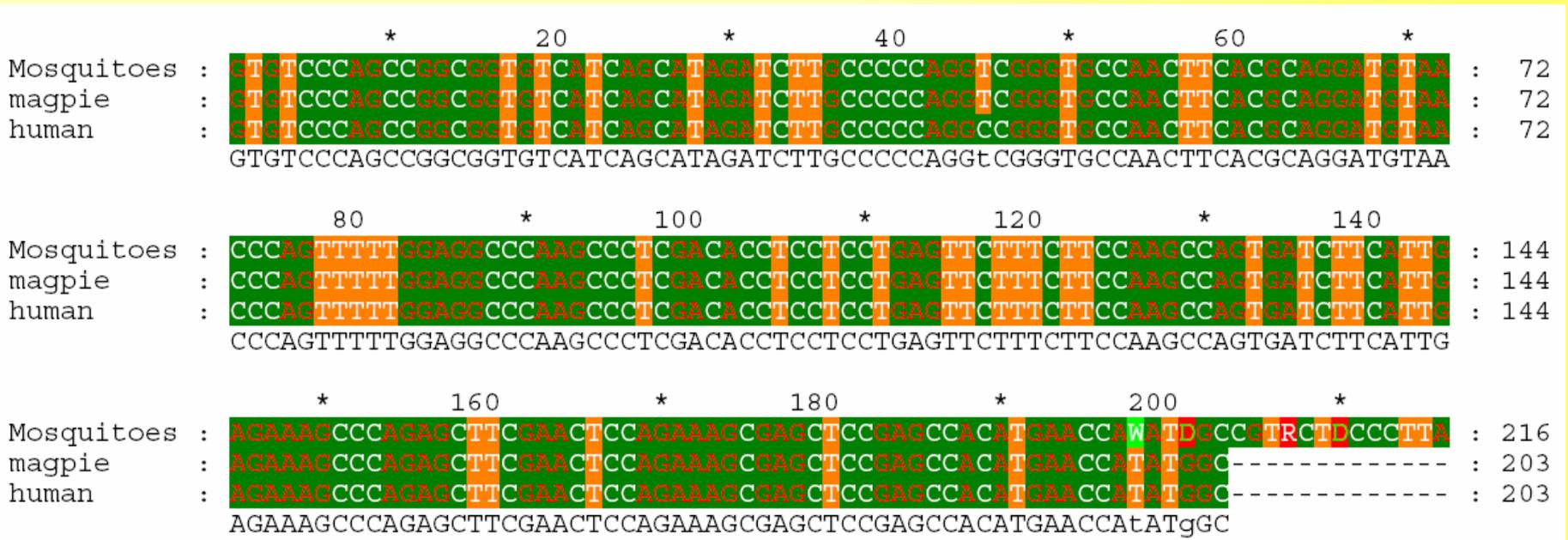
Positivi in PCR

- × 9 pool di zanzare sono risultate positivi in PCR per genere Flavivirus
- × 2 pool di *Cx. pipiens* sono risultate positivi anche per il WNV

Zone	Station	Date	Species	Sample size	Flavi PCR	WNV PCR
Lidi Ferraresi	Bellocchio	06/09/07	<i>Oc caspius</i>	21	p	
Lidi Ferraresi	Lido di Volano	20/09/07	<i>Oc caspius</i>	32	p	
Lidi Ferraresi	Punta Marina	21/09/07	<i>Oc caspius</i>	7	p	
WN-extra samples	Argelato	30/09/08	<i>Cx pipiens</i>	25	p	p
WN-extra samples	Cona	23/09/08	<i>Cx pipiens</i>	87	p	p
Lidi Ferraresi	Comacchio	23/07/08	<i>Oc caspius</i>	21	p	
Lidi Ferraresi	San Giuseppe	23/07/08	<i>Oc caspius</i>	55	p	
Lidi Ferraresi	Lido Pomposa	08/06/08	<i>Ae albopictus</i>	3	p	
Bassa Bolognese	S. Giovanni in Persiceto	14/10/08	<i>Ae albopictus</i>	2	p	

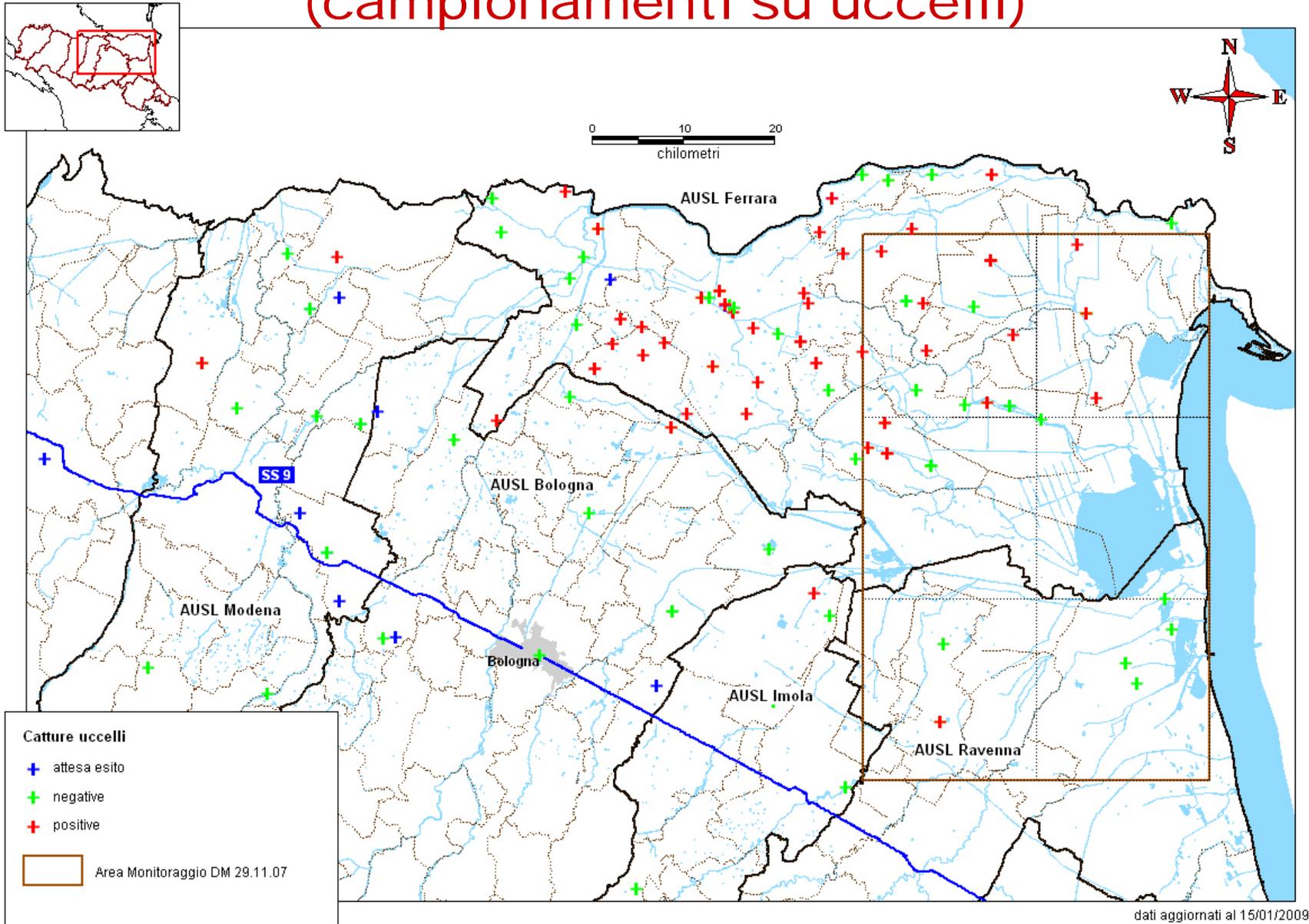
Positivi West Nile

Le sequenze degli amplificati ottenute dai due campioni positivi erano identiche tra loro. La BLAST analysis ha evidenziato somiglianza con due virus isolati del 2009 dell'Emilia-Romagna da una gazza (*Pica pica*) (100% homology, FJ472945) e da un caso umano (99% homology, FJ472946).

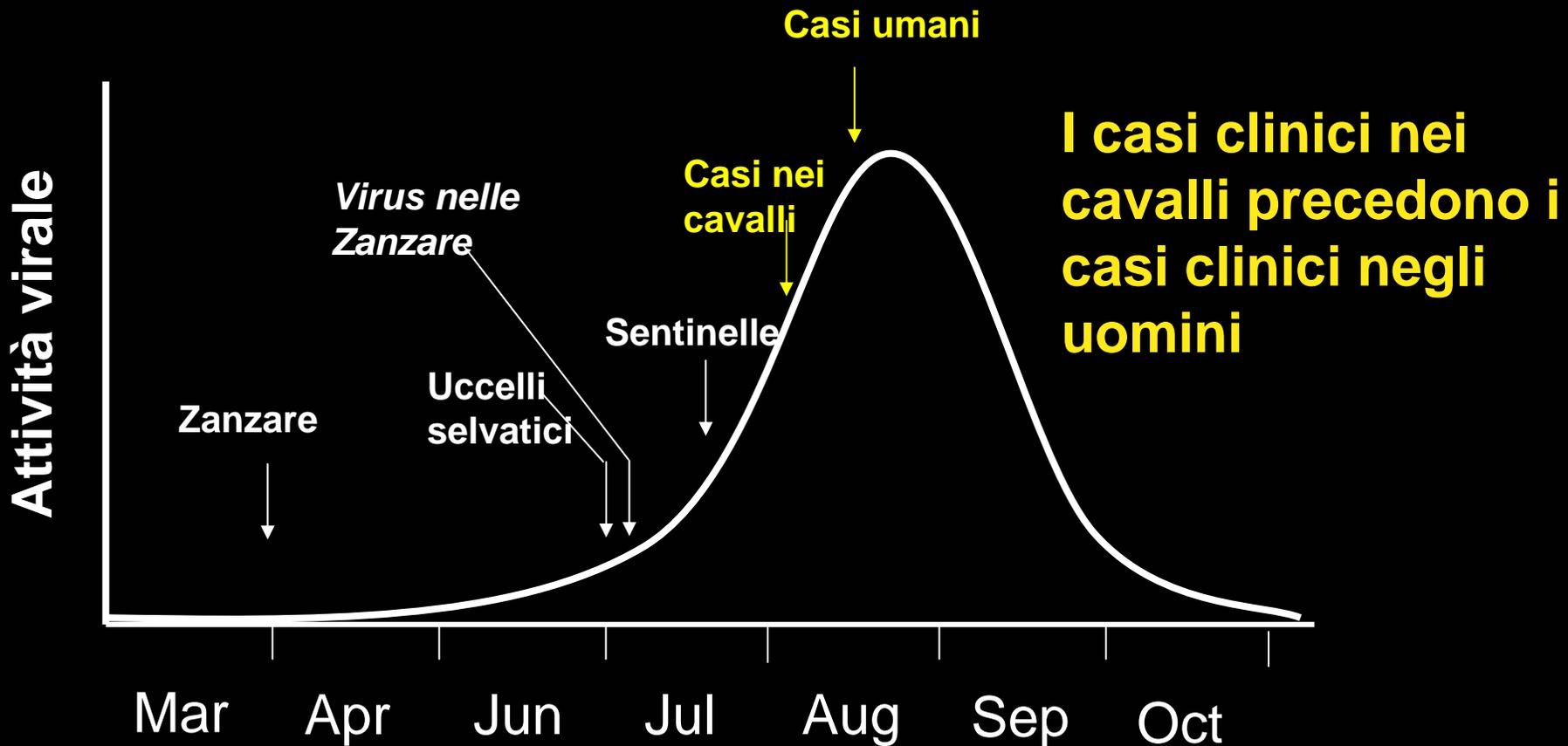


- scartate

Attività piano straordinario WND (campionamenti su uccelli)



Sorveglianza della WND: rilevazione degli eventi in funzione dell'attività virale



Le segnalazioni dei casi neurologici nei cavalli permettono di prevedere l'insorgenza di epidemie

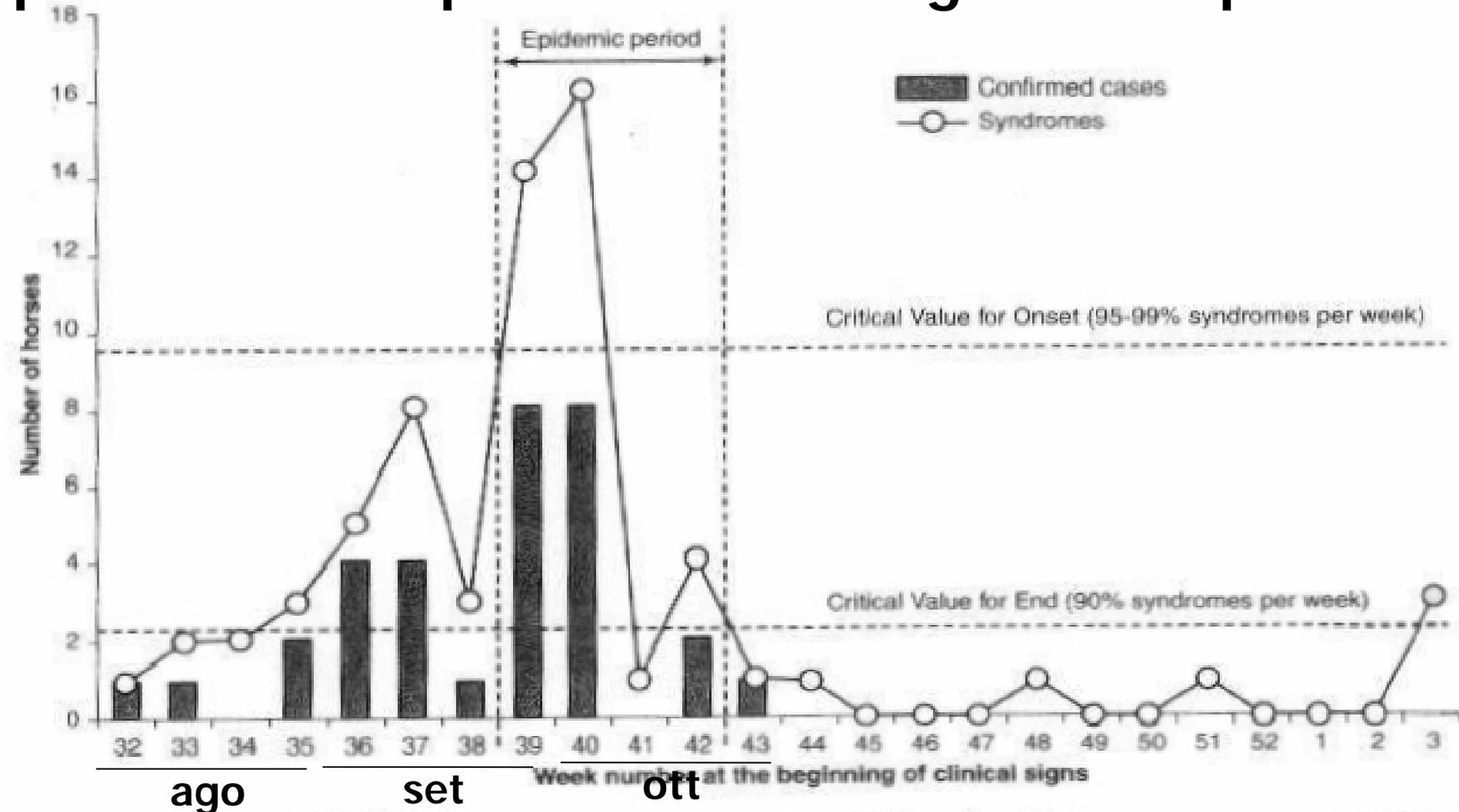


FIG. 1. Epidemic curve in 2004: determination of the epidemic period based on the distribution of neurological syndromes in horses ($n = 72$); comparison with the distribution of confirmed cases.

Per prevedere l'insorgenza di epidemie devono essere ridotti al minimo:

- t tra insorgenza e segnalazione
- t tra insorgenza/segnalazione e prelievo diagnostico
- t tra prelievo e esito di laboratorio

