

MINISTERO DELLA SALUTE

ORDINANZA 4 agosto 2011

Norme sanitarie in materia di encefalomielite equina di tipo West Nile (West Nile Disease) e attivita' di sorveglianza sul territorio nazionale. (11A11622) (GU n. 209 del 8-9-2011)

IL MINISTRO DELLA SALUTE

Visto il Testo unico delle leggi sanitarie, approvato con regio decreto 27 luglio 1934, n. 1265, e successive modificazioni;

Visto il Regolamento di polizia veterinaria, approvato con decreto del Presidente della Repubblica 8 febbraio 1954, n. 320, e successive modificazioni;

Visto l'art. 32 della legge 23 dicembre 1978, n. 833;

Vista l'ordinanza del Ministero della sanita' 6 ottobre 1984, recante «Norme relative alla denuncia di alcune malattie infettive degli animali nella Comunita' economica europea», pubblicata nella Gazzetta Ufficiale della Repubblica italiana 10 ottobre 1984, n. 279;

Visto il decreto del Presidente della Repubblica 11 febbraio 1994, n. 243, «Regolamento recante attuazione della direttiva 90/426/CEE relativa alle condizioni di polizia sanitaria che disciplinano i movimenti e le importazioni di equini di provenienza da Paesi terzi, con le modifiche apportate dalla direttiva 92/36/CEE»;

Visto l'art. 117 del decreto legislativo 31 marzo 1998, n. 112, e successive modificazioni;

Visto l'art. 8, comma 15, della legge 1° agosto 2003, n. 200, di conversione del decreto-legge 24 giugno 2003, n. 147, che stabilisce che sulla base delle linee guida e dei principi stabiliti dal Ministro delle politiche agricole, alimentari e forestali, l'UNIRE organizza e gestisce l'anagrafe equina nell'ambito del Sistema Informativo Agricolo Nazionale (SIAN) di cui all'art. 15 del decreto legislativo 30 aprile 1998, n. 173;

Visto il decreto ministeriale 29 novembre 2007, recante approvazione del Piano di sorveglianza nazionale per la encefalomielite di tipo West Nile (West Nile Disease), pubblicato nella Gazzetta Ufficiale della Repubblica italiana 12 febbraio 2008, n. 36;

Visto il decreto ministeriale 7 marzo 2008, recante «Organizzazione e funzioni del Centro nazionale di lotta ed emergenza contro le malattie animali e dell'Unita' centrale di crisi», pubblicato nella Gazzetta Ufficiale della Repubblica italiana 1° luglio 2008, n. 152;

Visto il regolamento (CE) n. 504/2008 della Commissione del 6 giugno 2008, recante attuazione delle direttive 90/426/CEE e 90/427/CEE del 26 giugno 1990 del Consiglio, per quanto riguarda i metodi di identificazione degli equidi;

Viste le note del direttore generale della sanita' animale e del farmaco veterinario del Ministero del lavoro, della salute e delle politiche sociali, prot. n. 18618-P, del 17 settembre 2008, e n. 21036, del 24 ottobre 2008, con le quali sono state impartite istruzioni per implementare, in tempi rapidi, il sistema informativo per la registrazione delle attivita' relative al Piano di sorveglianza per West Nile Disease;

Vista l'ordinanza del Ministero del lavoro, della salute e delle politiche sociali 5 novembre 2008, recante «West Nile Disease - Notifica alla Commissione europea e all'OIE - Piano di sorveglianza straordinaria», pubblicata nella Gazzetta Ufficiale della Repubblica italiana 26 novembre 2008, n. 277;

Vista la nota del Ministero del lavoro, della salute e delle politiche sociali, prot. n. DGSA/13691, del 24 luglio 2009, con cui

viene comunicata l'attivazione del Sistema informativo Malattie Animali Nazionale (SIMAN) per la notifica informatizzata dei focolai di malattie animali soggette a denuncia, ai sensi dell'art. 1, del citato decreto del Presidente della Repubblica 8 febbraio 1954, n. 320;

Visto il decreto del direttore generale della sanità animale e del farmaco veterinario del Ministero del lavoro, della salute e delle politiche sociali del 15 settembre 2009, recante: «Procedure operative d'intervento e flussi informativi nell'ambito del Piano della di sorveglianza nazionale per la Encefalomyelitis di tipo West Nile (West Nile Disease) - art. 2, comma 2, del decreto ministeriale 29 novembre 2007», pubblicato nella Gazzetta Ufficiale della Repubblica italiana 12 febbraio 2008, n. 36, e successive modificazioni;

Visto il decreto del Ministero delle politiche agricole alimentari e forestali 29 dicembre 2009, recante: «Linee guida e principi per l'organizzazione e la gestione dell'anagrafe equina da parte dell'UNIRE (art. 8, comma 15, legge 1° agosto 2003, n. 200)»;

Vista la circolare del Dipartimento della prevenzione e della comunicazione del Ministero della salute prot. n. 14381-P, del 15 giugno 2011, con la quale sono stati stabiliti, tra l'altro, i criteri della sorveglianza umana della West Nile Disease;

Visto il parere del Centro di riferimento nazionale per le malattie esotiche, presso l'Istituto zooprofilattico sperimentale dell'Abruzzo e del Molise, reso in data 10 novembre 2010;

Acquisito il parere tecnico del Centro nazionale di lotta ed emergenza contro le malattie animali - Direzione strategica del Dipartimento per la sanità pubblica veterinaria, la nutrizione e la sicurezza degli alimenti, reso in data 10 novembre 2010;

Visto l'art. 2 dell'ordinanza del Ministero della salute 3 agosto 2011, in corso di registrazione, concernente «Norme sanitarie in materia di encefalomyelitis equina»;

Visto il decreto ministeriale 1° aprile 2010 recante «Delega di attribuzioni del Ministro della salute, per taluni atti di competenza dell'amministrazione, al Sottosegretario di Stato on. Francesca Martini»;

Rilevato che si sono evidenziati casi di encefalomyelitis di tipo West Nile dalla fine del mese di agosto 2008, e che alcune positivita' riscontrate nel 2009 e nel corso del 2010, hanno coinvolto anche aree del territorio nazionale non considerate a rischio e non interessate dall'epidemia del 2008;

Ritenuto pertanto necessario confermare e integrare le misure straordinarie introdotte con la citata ordinanza ministeriale, tenuto conto che l'infezione ha interessato territori diversi da quelli sottoposti a monitoraggio nel triennio 2008-2010 e che i dati epidemiologici derivanti dalle attivita' di sorveglianza veterinaria straordinaria sono utili e indispensabili per le misure preventive che interessano l'uomo, stante il carattere zoonotico della malattia;

Ordina:

Art. 1

Finalita' e definizioni

1. Le misure della presente ordinanza si applicano nei casi di insorgenza di encefalomyelitis di tipo West Nile (West Nile Disease).

2. Ai fini della presente ordinanza si applicano le seguenti definizioni:

a) equide sospetto di West Nile Disease: un equide che, nel periodo di attivita' dei vettori, presenta atassia locomotoria o morte improvvisa, in particolare in una zona a rischio come definita

all'allegato A) della presente ordinanza, oppure un equide che, nel periodo di attivita' dei vettori, presenta almeno uno dei seguenti sintomi: movimenti in circolo; incapacita' a mantenere la stazione quadrupedale; paralisi/paresi agli arti; fascicolazioni muscolari; deficit propiocettivi. Tali sintomi possono essere accompagnati da: debolezza degli arti posteriori; cecita'; ptosi del labbro inferiore, o paresi dei muscoli labiali o facciali; digrignamento dei denti. Deve essere considerato come sospetto di encefalomyelite di tipo West Nile anche un risultato sierologico positivo in assenza di sintomatologia clinica;

b) conferma del sospetto diagnostico: avviene quando i campioni prelevati dall'equide sospetto di cui alla lettera a) risultano positivi a uno o piu' esami di laboratorio di conferma effettuati dal Centro di referenza nazionale per le malattie esotiche presso l'Istituto zooprofilattico sperimentale delle regioni Abruzzo e Molise;

c) positivita' recente e autoctona: una positivita' confermata per la quale dall'indagine epidemiologica e dal quadro degli esami di laboratorio si puo' presumere che l'infezione sia la conseguenza della circolazione del virus nel luogo in cui e' stato tenuto l'animale negli ultimi due mesi.

Art. 2

Ambito di applicazione e criteri

1. L'attuazione del Piano di sorveglianza per encefalomyelite di tipo West Nile (West Nile Disease) di cui al decreto ministeriale 29 novembre 2007 e' obbligatoria nei territori individuati secondo i criteri di cui all'allegato A) della presente ordinanza.

2. Il Piano di sorveglianza di cui al precedente comma e' annuale e si applica ad integrazione delle attivita' gia' previste sull'intero territorio nazionale ai sensi del decreto ministeriale 29 novembre 2007.

3. Sulla base dell'evoluzione epidemiologica l'allegato A) della presente ordinanza e' modificato annualmente con decreto del direttore generale della sanita' animale e del farmaco veterinario del Ministero della salute, sentito il Centro di referenza nazionale per le malattie esotiche presso l'Istituto zooprofilattico sperimentale delle regioni Abruzzo e Molise e acquisito il parere tecnico della Direzione strategica del Centro nazionale di lotta ed emergenza contro le malattie animali.

Art. 3

Flussi informativi

1. Sulla base dei dati anamnestici e dei risultati dell'indagine epidemiologica, la Direzione generale della sanita' animale e del farmaco veterinario del Ministero della salute, di concerto con il Centro di referenza nazionale per le malattie esotiche presso l'Istituto zooprofilattico sperimentale delle regioni Abruzzo e Molise e il servizio veterinario delle Regioni coinvolte, identificano l'area interessata dalla circolazione virale.

2. Al fine di tutelare la salute umana, i servizi veterinari delle aziende sanitarie locali competenti per territorio, segnalano, contestualmente alla regione e ai dipartimenti di prevenzione,

servizi d'igiene e di sanita' pubblica delle aziende sanitarie locali competenti per territorio, le positivita' recenti e autoctone rilevate nell'area interessata dalla circolazione virale, ai sensi dell'art. 5 del decreto del Presidente della Repubblica 8 febbraio 1954, n. 320, e successive modificazioni.

3. I dipartimenti di prevenzione, servizi d'igiene e di sanita' pubblica delle aziende sanitarie locali competenti per territorio segnalano ai servizi veterinari delle aziende sanitarie locali competenti per territorio le positivita' accertate nell'uomo. Tale informativa e' comunicata anche alla Direzione generale della sanita' animale e del farmaco veterinario del Ministero della salute e al Centro di referenza nazionale per le malattie esotiche presso l'Istituto zooprofilattico sperimentale delle regioni Abruzzo e Molise.

4. Nell'area interessata dalla circolazione virale non si applicano gli ulteriori provvedimenti di restrizione delle movimentazioni previste dal decreto del Presidente della Repubblica 8 febbraio 1954, n. 320, e successive modificazioni.

Art. 4

Identificazione degli equidi

1. Gli equidi sottoposti alle misure previste dalla presente ordinanza devono essere identificati ai sensi del decreto del Ministro delle politiche agricole, alimentari e forestali 29 dicembre 2009.

2. Gli equidi di cui alla presente ordinanza non possono essere movimentati prima del termine delle prove diagnostiche, ad eccezione di quelli identificati e rintracciati sulla base delle disposizioni previste dal decreto del Ministro delle politiche agricole, alimentari e forestali 29 dicembre 2009.

Art. 5

Sistema informativo

1. Al fine di adempiere agli obblighi previsti dagli articoli 3, 4, 5, 6 e 7 dell'ordinanza del Ministero della sanita' 6 ottobre 1984, le regioni e le province autonome di Trento e Bolzano utilizzano il Sistema Informativo per la Notifica delle Malattie Animali (SIMAN) di cui alla nota DGSA prot. - 13691 del 24 luglio 2009, del Ministero del lavoro, della salute e delle politiche sociali.

2. Gli Istituti zooprofilattici sperimentali competenti per territorio e autorizzati all'esecuzione delle prove di laboratorio, con cadenza quindicinale, nell'ambito delle attivita' previste all'allegato A) della presente ordinanza, effettuano la registrazione presso il SIMAN degli esiti degli esami di laboratorio.

3. I servizi veterinari regionali o locali delle regioni e province autonome di Trento e Bolzano utilizzano le apposite applicazioni informatiche del SIMAN per la registrazione delle attivita' di sorveglianza svolte sugli equidi, identificati e registrati secondo il decreto del Ministro delle politiche agricole, alimentari e forestali del 29 dicembre 2009, e sui gruppi di polli sentinella.

Art. 6

Vaccinazione facoltativa degli equidi

1. Su specifica richiesta delle regioni e province autonome di Trento e Bolzano, il Ministero della salute espleta le procedure per rendere disponibile un presidio immunizzante per consentire la vaccinazione facoltativa a carico dei proprietari/detentori degli equidi.

2. L'avvenuta vaccinazione di cui al comma 1 e' registrata sull'apposita sezione del documento di identita' (passaporto) dell'equide, di cui al decreto del Ministro delle politiche agricole, alimentari e forestali 29 dicembre 2009, e contestualmente, sulla Banca dati nazionale degli equidi.

Art. 7

Entrata in vigore e durata

1. La presente ordinanza entra in vigore 7 giorni successivi alla sua pubblicazione nella Gazzetta Ufficiale della Repubblica italiana e ha validita' di 24 mesi dalla pubblicazione.

La presente ordinanza e' inviata alla Corte dei conti per la registrazione.

Roma, 4 agosto 2011

p. Il Ministro
Il Sottosegretario di Stato
Martini

Registrato alla Corte dei conti il 12 agosto 2011
Ufficio di controllo preventivo sui Ministeri dei servizi alla persona e dei beni culturali, registro n. 11, foglio n. 145

Allegato

WEST NILE DISEASE

Procedure operative di intervento e flussi informativi nell'ambito
del Piano di sorveglianza nazionale
per la Encefalomyelitis di tipo West Nile (West Nile Disease)
2011

1 INTRODUZIONE

Le procedure operative di intervento e i flussi informativi descritti nel presente documento per l'anno 2011 sono adottate nell'ambito del Piano di sorveglianza per la West Nile Disease (WND) e, come per gli anni precedenti, hanno il fine di individuare il piu' precocemente possibile la circolazione del virus West Nile (WNV) sia nelle aree dove gia' si e' avuta nel passato la circolazione del virus sia nelle restanti parti del territorio nazionale.

Obiettivi

1. Individuare precocemente la circolazione del virus della West Nile sul territorio nazionale.

2. Verificare la circolazione virale nelle popolazioni di equidi presenti sul territorio per poter individuare precocemente il passaggio del virus dagli uccelli ai mammiferi.
3. Verificare la persistenza e la possibile endemizzazione dell'infezione anche ai fini di sanita' pubblica.

2 CRITERI GENERALI PER LA SORVEGLIANZA DELLA WND

La sorveglianza nei confronti della WND si basa sulle seguenti componenti:

1. sorveglianza su uccelli stanziali di specie "sinantropiche". In caso di mancato raggiungimento del 50% delle attivita' previste, e' possibile, in alternativa, attuare la sorveglianza su allevamenti avicoli rurali o all'aperto o tramite il posizionamento di gruppi di polli sentinella,
2. sorveglianza negli equidi,
3. sorveglianza entomologica,
4. sorveglianza dell'avifauna selvatica di specie migratorie.

Le modalita' di attuazione delle 4 componenti differiscono a seconda della situazione epidemiologica riscontrata.

Sono individuate 3 aree geografiche distinte:

A. area con circolazione virale (ACV) (Figura 1). E' l'area che e' stata interessata dalla circolazione del virus della West Nile nel corso degli ultimi anni. L'elenco dei territori inclusi nell'ACV e' riportato nella Sezione I;

B. area di sorveglianza esterna alla ACV (AE), estesa per un raggio di 20 km intorno ai casi verificatisi nelle zone piu' esterne dell'ACV (Figura 1). L'elenco dei territori inclusi nell'area di sorveglianza e' riportato nella Sezione II;

C. resto del territorio nazionale (aree a rischio - AR) (Figura 1):

ABRUZZO: Foce del fiume Vomano 42°39' N - 14°02' E

BASILICATA: Lago di San Giuliano 40°38' N - 16°30' E

CALABRIA: Foce del Fiume Neto 39°12' N - 17°08' E

CAMPANIA: Serre Persano 40°33' N - 15°08' E

MARCHE: Sentina 43°28' N - 13°38' E

PIEMONTE: Garzaia di Marengo 44°49' N - 8°40' E

SARDEGNA: Stagno di S'Ena Arrubia 39°49' N - 08°34' E

SICILIA: Oasi del Simeto 37°19' N - 14°55' E

TOSCANA: Padule di Fucecchio 43°49' N - 10°47' E

L'elenco dei Comuni inclusi nelle aree di studio e' riportato nella Sezione III.

In Tabella 1 e' riportata una sintesi delle attivita' previste per ciascuna area.

3 AREA CON CIRCOLAZIONE VIRALE (ACV)

3.1 Unita' geografica di riferimento

Al fine di standardizzare opportunamente le attivita' di sorveglianza nell'ambito dell'area, si considera come unita' geografica di riferimento il territorio avente una superficie complessiva di circa 1200-1600 km². In tal modo, per le aree incluse nell'ACV di ciascuna Provincia e' possibile definire il numero di unita' geografiche di riferimento che essa include (Tabella 2). Ne consegue che, ad esempio, se nel territorio incluso nell'ACV di una Provincia il numero di unita' geografiche da esso rappresentato e' pari a 0.5, il numero di unita' campionarie previste dal presente documento nell'ambito delle diverse azioni di sorveglianza per ciascuna unita' geografica di riferimento dovra' essere ridotto alla meta' (esempio: numero di allevamenti rurali o all'aperto da campionare per unita' di riferimento = 60, numero di allevamenti effettivamente da campionare sul territorio incluso nell'ACV della Provincia = 30), mentre, al contrario se il numero di unita' geografiche da esso rappresentato e'

pari a 1.5, il numero di unita' campionarie previste per ciascuna unita' geografica di riferimento dovra' essere aumentato della meta' (esempio: numero di siti da sorvegliare tramite specie aviarie sentinella per ciascuna unita' = 4, numero di siti effettivamente da sorvegliare sul territorio incluso nell'ACV della Provincia = 6).

3.2 Sorveglianza su uccelli stanziali appartenenti a specie "sinantropiche"

Si definiscono specie "sinantropiche" gli uccelli appartenenti alle seguenti specie:

- Cornacchia grigia (*Corvus corone cornix*),
- Taccole (*Corvus monedula*),
- Gazza (*Pica pica*),
- Ghiandaia (*Garrulus glandarius*),
- Piccione o colombo (*Columba livia*),
- Storni (*Sturnus vulgaris*).

Tali specie animali sono sottoposte a sorveglianza attiva nell'ACV allo scopo di individuare precocemente la ripresa della circolazione virale.

Poiche' i piani di cattura e/o depopolamento all'interno dell'ACV differiscono in base alla giurisdizione amministrativa interessata (Amministrazione Provinciale, aree protette) sara' cura delle Regioni competenti individuare gli Enti/Organizzazioni incaricati dello svolgimento di tale programma e coordinare le attivita' di prelievo dagli esemplari sottoposti ad eutanasia e l'invio dei campioni al Centro di Referenza Nazionale per le malattie esotiche presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle regioni Abruzzo e Molise, di seguito "CESME". L'IZS competente invia idonei campioni di organo (cuore, cervello, rene e milza) al CESME per la diagnosi di WND.

Per ogni specie prelevata dovra' essere compilata una scheda W02 di accompagnamento.

Dovranno essere campionati almeno 100 esemplari per unita' geografica di riferimento.

In aggiunta agli organi sopra menzionati e' possibile inviare al CESME campioni di sangue/siero prelevati da uccelli di specie sinantropiche. Per ogni specie prelevata dovra' essere compilata una scheda W02 di accompagnamento.

Nelle aree dove la sorveglianza su uccelli stanziali appartenenti a specie "sinantropiche" non puo' essere attivata o si prevede che non sara' in grado di raggiungere almeno il 50% dei controlli previsti, occorre effettuare le attivita' previste in allevamenti avicoli rurali e all'aperto (vedi capitolo 3.3.1) o, in alternativa, quelle conseguenti al posizionamento di gruppi di animali sentinella (vedi capitolo 3.3.2).

3.3 Sorveglianza nelle specie avicole

3.3.1 Sorveglianza in allevamenti avicoli rurali e all'aperto

Nelle aree dove la sorveglianza su uccelli stanziali appartenenti a specie "sinantropiche" non puo' essere attivata o si prevede che non sara' in grado di raggiungere almeno il 50% dei controlli previsti, e' 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 verranno privilegiati gli allevamenti in possesso delle seguenti caratteristiche:

- proximita' ad aree umide o comunque dove si registra un'elevata concentrazione di avifauna selvatica, sia stanziale che di passo,
- allevamenti all'aperto,
- allevamenti di selvaggina, aziende faunistico-venatorie e

agri-faunistiche.

Sulla base del numero delle aziende presenti nel territorio incluso nell'ACV di ciascuna provincia, il numero di allevamenti da campionare e' riportato in Tabella 3.

All'interno di ciascuno allevamento verranno sottoposti a prelievo un numero di animali, possibilmente di eta' inferiore ai 6 mesi, come riportato in Tabella 4.

Le attivita' di campionamento iniziano a marzo e terminano entro la fine di novembre. I prelievi possono essere effettuati contestualmente a quelli del piano di monitoraggio dell'influenza aviaria.

Gli operatori, devono prelevare per ciascun animale 2 campioni di sangue da porre in 2 provette: una senza anticoagulante e una con EDTA⁽¹⁾ (minimo 2 ml di sangue per provetta da conservare a temperatura di +4 °C).

(¹) Non usare l'eparina come anticoagulante perche' interferisce con la PCR.

I campioni, inviati al CESME, dovranno essere accompagnati dalla scheda WO1 gia' pre-compilata nella parte anagrafica (vedi le indicazioni contenute nel capitolo 9 del presente documento).

Si considera positivo un animale che abbia dato esito positivo ad un esame sierologico e/o virologico specifico per il virus della West Nile.

In caso di positivita' ai test diagnostici di laboratorio, il CESME comunica subito i risultati alla Direzione Generale della Sanita' Animale e del Farmaco Veterinario, al servizio veterinario della Regione competente ed all'IZS che ne aveva fatto richiesta.

3.3.2 Sorveglianza attraverso il posizionamento di gruppi di animali sentinella

Nelle aree dove la sorveglianza su uccelli stanziali appartenenti a specie "sinantropiche" non puo' essere attivata o si prevede che non sara' in grado di raggiungere almeno il 50% dei controlli previsti, e' possibile, in alternativa, utilizzare esemplari in gabbia di specie avicole (polli o galline a fine carriera). Per ciascuna unita' geografica di riferimento devono essere selezionati 4 siti di sorveglianza, dove posizionare, per ciascuno di essi, almeno 30 esemplari suddivisi in due gruppi di 15 animali ciascuno; e' preferibile, ove possibile, posizionare le sentinelle all'interno di aziende zootecniche operanti nell'area di studio e poste preferibilmente entro circa 800 m dalle aree di concentrazione dell'avifauna e/o di zone umide (raccolte d'acqua dolce o salmastra di qualunque tipo). Le sentinelle al primo prelievo devono risultare negative nei confronti del virus della WN.

A partire dal 15 marzo e fino al 30 ottobre, devono essere effettuati prelievi di sangue ogni 15 giorni, alternando i prelievi sui due sottogruppi.

Gli operatori devono prelevare per ciascun animale 2 campioni di sangue da porre in 2 provette: una senza anticoagulante e una con EDTA (minimo 2 ml di sangue per provetta da conservare a temperatura di +4 °C). I campioni inviati dovranno essere accompagnati dalla scheda WO1 pre-compilata nella parte anagrafica (vedi le indicazioni contenute nel capitolo 9 del presente documento).

In caso di positivita' ai test diagnostici di laboratorio, il CESME comunica subito i risultati alla Direzione Generale della Sanita' Animale e del Farmaco Veterinario, ai servizi veterinari regionali della Regione ed all'IZS che ne aveva fatto richiesta.

3.4 Sorveglianza negli equidi

Nella zona ACV non si effettua la sorveglianza attiva negli equidi, per la presenza di numerosi equidi già sierologicamente positivi. Sulla base degli esiti dei precedenti controlli, o individuando animali giovani (puledri) come oggetto di campionamento, le Regioni possono attivare specifici piani di controllo sierologico su animali sentinella in tutto o parte del territorio di loro competenza. Qualora tali piani vengano attivati dovranno rispettare le cadenze dei controlli previsti per il controllo negli equidi sentinella di cui al capitolo 4.4. I campioni inviati dovranno essere accompagnati dalla scheda W03 pre-compilata nella parte anagrafica (vedi le indicazioni contenute nel capitolo 9 del presente documento). In caso di positività ai test diagnostici di laboratorio, il CESME comunica subito alla Direzione Generale della Sanità Animale e del Farmaco Veterinario, al servizio veterinario della Regione competente ed all'IZS che ne aveva fatto richiesta. Per le definizioni di sospetto e di conferma si rimanda al comma 2, ad. 1 della presente ordinanza. Per quanto riguarda la sorveglianza clinica su casi sospetti di encefalite si rimanda a quanto riportato nel capitolo 6 del presente documento.

3.5 Sorveglianza entomologica

La sorveglianza entomologica ha i seguenti obiettivi:

- identificare le specie di zanzare responsabili della trasmissione virale nel ciclo enzootico,
- identificare le specie di zanzare responsabili della trasmissione virale ai cavalli,
- valutare l'overwintering delle zanzare e del virus nelle specie di zanzare,
- valutare la precocità del rilievo del virus nelle zanzare.

La sorveglianza entomologica è effettuata in almeno 2 aziende per ciascuna unità geografica di riferimento.

Le aziende scelte devono avere le seguenti caratteristiche:

- aziende nelle quali nel corso dei precedenti anni sono stati riscontrati casi clinici o sieroconversioni negli animali sentinella o positività nei culicidi,
- aziende situate in prossimità di aree umide e con un'elevata concentrazione di avifauna selvatica.

Presso le aziende prescelte vengono installate:

- 1 trappola di tipo CO2-CDC,
- 1 trappola del tipo gravid trap,
- 1 trappola del tipo BG sentinel.

Le catture vengono effettuate con cadenza mensile durante tutto l'anno. La gravid trap e la BG sentinel devono essere attive per due giorni e due notti consecutive e le catture vengono ritirate al termine delle due giornate. La CO2-CDC deve essere attiva per due notti (dal crepuscolo alla mattina successiva) di seguito e le catture vengono ritirate al termine di ogni notte di cattura.

Contestualmente alle catture eseguite con le trappole, vanno effettuate in ogni azienda catture di zanzare adulte tramite aspirazione nei ricoveri degli animali.

I campioni inviati dovranno essere inviati al CESME ed accompagnati dalla scheda W05 pre-compilata nella parte anagrafica qualora si tratti di aziende zootecniche (vedi le indicazioni contenute nel capitolo 9 del presente documento).

Qualora in ambito regionale sia approvato un programma di sorveglianza entomologica che prevede attività di sorveglianza coerenti con il presente Piano, i dati devono essere inseriti nel sistema informativo nazionale secondo i criteri stabiliti dal Ministero della Salute, sentito il CESME.

3.6 Sorveglianza dell'avifauna selvatica delle specie migratorie

Durante il periodo delle migrazioni, uccelli migratori viremici possono essere responsabili dell'introduzione del virus nelle aree di sosta o in quelle di nidificazione. Le aree dove si vengono a concentrare maggiormente questi animali sono le zone umide situate lungo le rotte migratorie.

Per poter mettere in evidenza l'arrivo di uccelli viremici e l'eventuale instaurarsi del ciclo silvestre, e' utile predisporre un sistema di controllo per individuare precocemente l'introduzione del virus.

Le Regioni, pertanto, che intendano attivare la sorveglianza sull'avifauna selvatica devono seguire le indicazioni di seguito riportate.

Il programma di monitoraggio sull'avifauna selvatica prevede tre campionamenti annuali da effettuare:

- il primo durante il passo primaverile (marzo-aprile),
- il secondo alla fine di agosto,
- il terzo fra la meta' e la fine di settembre.

Le catture di uccelli selvatici devono essere effettuate da personale addestrato allo scopo (inanellatori) provvisto di patentino di inanellamento di categoria A ed un veterinario debitamente addestrato ad effettuare prelievi di sangue negli uccelli selvatici, in collaborazione con gli agenti di Polizia Provinciale, gli Agenti del C.F.S., l'Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale, il Ce.R.M.A.S. e le autorità locali.

Le specie da sottoporre a monitoraggio devono includere sia passeriformi sia non passeriformi.

Il campione di sangue puo' essere prelevato da punti di repere differenti: negli animali di piccole dimensioni (da piccoli passeriformi fino a piccoli limicoli) il prelievo e' consigliabile dalla vena giugulare; per animali di maggiori dimensioni il prelievo puo' essere fatto dalla vena brachiale dell'ala o dalla vena metatarsale della zampa. La quantita' di siero prelevabile e' legata, ovviamente, al peso dell'animale.

I campioni prelevati dovranno essere conservati alla temperatura di +4° C ed inviati al CESME per gli esami di laboratorio. Si raccomanda di inviare i campioni in condizioni di conservazione ed immediatamente, proprio per la esiguita' del campione; per ogni specie di uccello prelevata va compilata una scheda W06 di accompagnamento. I campioni inviati dovranno essere accompagnati dalla scheda W06 debitamente compilata.

4 AREA DI SORVEGLIANZA ESTERNA

4.1 Unita' geografica di riferimento

Al fine di standardizzare opportunamente le attivita' di sorveglianza nell'ambito dell'area, si considera come unita' geografica di riferimento il territorio di uno o piu' Comuni e avente una superficie complessiva di circa 1200-1600 km². In tal modo, per le aree incluse nell'area di sorveglianza esterna di ciascuna Provincia e' possibile definire il numero di unita' geografiche di riferimento che essa include (Tabella 5). Per il calcolo del numero di unita' campionarie per il territorio incluso nell'area di sorveglianza di ciascuna Provincia, ci si comporta come nel caso dell'ACV (vedi capitolo 3.1 del presente documento).

4.2 Sorveglianza su uccelli stanziali appartenenti a specie "sinantropiche"

La sorveglianza sulle specie di uccelli sinantropici aliene con le stesse modalita' previste per l'ACV nel capitolo 3.2.

4.3 Sorveglianza nelle specie avicole

Il campionamento degli allevamenti avicoli rurali o all'aperto o, in alternativa, la sorveglianza tramite il posizionamento di gruppi di animali sentinella di specie aviarie e' effettuata con le stesse modalita' descritte per l'ACV (vedi capitolo 3.3 del presente documento).

4.4 Sorveglianza negli equidi

La sorveglianza negli equidi viene effettuata con le seguenti modalita':

1. entro il 31 marzo di ciascun anno i Servizi Veterinari dell'Aziende USL competenti selezionano 28 cavalli per ciascuna unita' geografica di riferimento su cui effettuare il controllo sierologico (animali sentinella).

2. I capi sentinella dovranno essere scelti nelle aziende in modo tale da essere il piu' possibile rappresentativi dell'intero territorio sotto sorveglianza.

Poiche' l'obiettivo principale e' di individuare l'inizio o la ripresa della circolazione virale negli equidi per determinare il passaggio del virus dagli uccelli ai mammiferi ed il rischio per l'uomo, e' opportuno utilizzare cavalli stanziali (per i quali non si prevede movimentazione durante il periodo dei controlli) oppure cavalli per i quali sia possibile escludere qualunque contatto precedente con il virus (puledri di eta' <= 6 mesi). Le attivita' di campionamento iniziano ad aprile e terminano a settembre; nel corso di tale periodo i cavalli vengono prelevati 3 volte, la prima all'inizio del periodo (aprile-maggio), la seconda volta nell'ultima settimana di agosto, ed una terza nell'ultima settimana di settembre. I prelievi possono essere effettuati contestualmente a quelli del piano di sorveglianza nazionale dell'anemia infettiva equina (OM 8 Agosto 2010) o altri piani di sorveglianza, concentrando l'attivita' nei mesi a rischio per la ricerca di IgM previa verifica che:

- gli equidi siano stanziali e che non si siano movimentati negli ultimi 6 mesi;

- gli equidi non siano stati vaccinati per la West Nile disease.

I prelievi devono essere effettuati sempre sugli stessi cavalli. I campioni inviati dovranno essere accompagnati dalla scheda W03 pre-compilata nella parte anagrafica scegliendo "Motivo del prelievo [2]:cavalli sentinella" (vedi le indicazioni contenute nel capitolo 9 del presente documento).

In caso di positivita' ai test diagnostici di laboratorio, il CESME comunica subito alla Direzione Generale della Sanita' Animale e del Farmaco Veterinario, al servizio veterinario della Regione competente ed al richiedente. In caso di positivita' verranno eseguite le attivita' riportate nel Punto 8.2 del documento. Per le definizioni di sospetto e di conferma si rimanda al comma 2, art. 1 della presente ordinanza.

Per quanto riguarda la sorveglianza clinica su casi sospetti di encefalite si rimanda a quanto riportato nel capitolo 6 del presente documento.

4.5 Sorveglianza entomologica

La sorveglianza entomologica nelle aree di sorveglianza esterna ha l'obiettivo principale di valutare l'overwintering delle zanzare e la precocita' del rilievo del virus nelle specie di zanzare, qualora si verificasse la circolazione del virus in tali zone.

Contestualmente alle catture eseguite con le trappole, devono essere effettuate in ogni azienda catture di zanzare adulte tramite aspirazione nei ricoveri degli animali.

La sorveglianza entomologica e' effettuata in 2 aziende per ciascuna unita' geografica di riferimento, in cui sia attiva la sorveglianza

sierologica sugli equini.

Presso le aziende prescelte verranno installate:

- 1 trappola di tipo CO2-CDC,
- 1 trappola del tipo gravid trap,
- 1 trappola del tipo BG sentinel.

Le catture vengono effettuate seguendo le stesse modalita' descritte per I'ACV (vedi capitolo 3.5 del presente documento).

5 AREE A RISCHIO

5.1 Unita' geografica di riferimento

Nel caso delle aree di studio presenti sul territorio nazionale ed elencate nella Sezione III, al fine di semplificare l'esecuzione delle attivita' di sorveglianza, si considera come unita' geografica di riferimento il territorio di ciascuna area di studio.

5.2 Sorveglianza su uccelli stanziali appartenenti a specie "sinantropiche"

La sorveglianza sulle specie di uccelli sinantropici awiene con le stesse modalita' previste per I'ACV nel capitolo 3.2.

5.3 Sorveglianza nelle specie avicole

Il campionamento negli allevamenti avicoli rurali o all'aperto o, in alternativa, la sorveglianza tramite il posizionamento di gruppi di animali sentinella di specie aviarie e' effettuata con le stesse modalita' descritte per I'ACV e per le aree di sorveglianza esterna (vedi capitolo 3.3 del presente documento).

5.4 Sorveglianza negli equidi

La sorveglianza attiva degli Equidi nelle aree di studio viene effettuata con le stesse modalita' descritte per le aree di sorveglianza esterna (vedi capitolo 4.4 del presente documento).

5.5 Sorveglianza entomologica

La sorveglianza entomologica nelle aree a rischio ha come obiettivo quello di definire la composizione della fauna culicidica in tali aree.

Per ciascuna area di studio deve essere selezionata 1 azienda sentinella, che puo' essere sia un'azienda equina sia un allevamento avicolo all'aperto; l'azienda deve essere situata in proximita' di zone umide e/o con un'elevata concentrazione di avifauna selvatica.

Presso l'azienda prescelta verranno installate:

- 1 trappola di tipo CO2-CDC,
- 1 trappola del tipo BG sentinel.

Le catture vengono effettuate con le stesse modalita' descritte per la zona ACV, una volta al mese a partire dalla fine di marzo fino alla fine di ottobre. I campioni devono essere inviati al CESME accompagnati dalla scheda W05.

Per tutte le attivita' di cattura entomologica descritte per le 3 diverse Aree, visionare la Sezione IV esplicativo:

"Modalita' di cattura/gestione del campione entomologico".

5.6 Sorveglianza dell'avifauna selvatica delle specie migratorie

La sorveglianza sulle specie di uccelli migratori awiene con le stesse modalita' previste per I'ACV nel capitolo 3.6.

6 SORVEGLIANZA CLINICA NEGLI EQUIDI

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.

Sintomi tipici della malattia nei cavalli sono i seguenti:

- movimenti in circolo,
- debolezza arti posteriori,
- incapacita' a mantenere la stazione quadrupedale,
- paralisi/paresi agli arti,
- fascicolazioni muscolari,
- deficit propriocettivi,
- cecita',
- ptosi labbro inferiore o paresi/paralisi dei muscoli labiali o facciali,
- digrignamento dei denti.

Nel caso di sospetta sintomatologia neurologica in Equidi, il servizio veterinario dell'Azienda USL competente per territorio provvede a darne immediata comunicazione alla Direzione Generale della Sanita' Animale e del Farmaco Veterinario ed al servizio veterinario della Regione. Il servizio veterinario dell'Azienda USL provvede altresì ad informare l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale competente per territorio e il CESME, e ad eseguire prelievi di sangue sugli equidi che manifestano sintomatologia clinica riferibile a WND. I campioni di sangue sono inviati all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di competenza con la relativa scheda W03 - scegliendo come "Motivo del prelievo" [1]:presenza di cavalli con sintomi clinici -per il successivo inoltro al CESME.

Qualora il sospetto riguardi animali deceduti o soppressi in seguito a sindrome neurologica, il servizio veterinario dell'Azienda USL competente per territorio, in collaborazione con l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale competente per territorio effettua l'esame anatomico-patologico ed il prelievo del cervello e del midollo spinale, del cuore e della milza che devono essere inviati immediatamente al CESME, in quantita' idonea, perfettamente confezionati e conservati, accompagnati dalla scheda W03 - Motivo del prelievo [5]: controllo su cavalli deceduti/abbattuti - debitamente compilata.

In caso di positivita' ai test diagnostici di laboratorio, il CESME comunica i risultati alla Direzione Generale della Sanita' Animale e del Farmaco Veterinario, ed al servizio veterinario della Regione competente ed al richiedente.

In caso di positivita' confermata dagli esami di laboratorio eseguiti dal CESME, il servizio veterinario dell'Azienda USL provvedera' ad eseguire prelievi di sangue su tutti gli equidi presenti in azienda. I campioni di sangue sono inviati all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di competenza con la relativa scheda W03 -scegliendo come "Motivo del prelievo" [4]: controllo su cavalli presenti nella stessa azienda in cui si trova il caso confermato - per il successivo inoltro al CESME.

Per ciascun animale devono essere prelevati due campioni di sangue da porre in due provette: una senza anticoagulante ed una con EDTA (almeno 8 ml di sangue per provetta da conservare a temperatura di +4 °C).

7 SORVEGLIANZA SULLA MORTALITA' NEGLI UCCELLI SELVATICI

La sorveglianza passiva sull'avifauna selvatica si effettua su tutto il territorio nazionale. In seguito alla segnalazione di mortalita' anomala o di aumento dell'incidenza della mortalita' nell'avifauna selvatica, gli animali rinvenuti morti devono essere raccolti e

inviati all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale competente per territorio che, una volta effettuato l'esame anatomo-patologico, invia i campioni di organo (cuore, cervello, rene e milza) al CESME per la ricerca del virus. I campioni devono essere inviati secondo le raccomandazioni indicate nella Circolare n. 3 del 8 maggio 2003 e accompagnati dalla scheda W02 debitamente compilata. Per ogni specie di uccello prelevata va compilata una distinta scheda W02 di accompagnamento.

8 MISURE DA ADOTTARE IN CASO DI POSITIVITA'

8.1 Positivita' in allevamenti avicoli rurali e all'aperto o in gruppi di animali sentinella delle specie aviarie

In caso di positivita' confermate in soggetti di allevamenti avicoli rurali o all'aperto, oppure in animali sentinella delle specie aviarie, il servizio veterinario dell'Azienda USL, ricevuta la comunicazione della conferma di positivita', provvede ad abbattere gli animali positivi ed ad inviarli, accompagnati dalla scheda W01, all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale competente per territorio, che provvede ad eseguire gli esami anatomo-patologici su tutti i soggetti pervenuti e ad inviare subito al CESME i campioni di rene, cuore, milza e cervello di tutti gli animali, contestualmente a copia della scheda W01 (vedi le indicazioni contenute nel capitolo 9 del presente documento).

Qualora la positivita' sia confermata anche dagli esami virologici o di ricerca del genoma virale (PCR) negli organi, e nel caso ci si trovi in aree diverse dalle aree con circolazione virale (ACV), il servizio veterinario dell'Azienda USL competente per territorio provvede a:

- effettuare catture esaustive dei culicidi presenti nell'azienda,
- sottoporre a prelievo di sangue e siero un numero rappresentativo di animali presenti nell'azienda avicola,
- sottoporre a prelievo un campione di equidi presenti nel raggio di 4 km dall'allevamento avicolo o gruppo di animali sentinella con esiti positivi. Il campione di animali da prelevare e' calcolato sulla base della Tabella 4. I campioni di sangue sono inviati all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di competenza con la relativa scheda W03 - Motivo del prelievo [3]: controllo a campione su cavalli stanziali presenti nelle aziende a 4 Km rispetto al focolaio - per il successivo inoltro al CESME.

8.2 Sieroconversione in cavalli sentinella, positivita' diagnostica o conferma di sospetto clinico

In caso di sieroconversione in cavalli sentinella, di positivita' diagnostica confermata o qualora un sospetto clinico sia confermato dagli esami di laboratorio, il servizio veterinario dell'Azienda USL, ricevuta la comunicazione della conferma di positivita', provvede a:

- sottoporre a visita clinica tutti gli equidi presenti in azienda,
- effettuare un prelievo di sangue e siero in tutti gli equidi presenti in azienda ed inviarlo al CESME, I campioni di sangue sono inviati all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di competenza con la relativa scheda W03 - Motivo del prelievo [4]: controllo su cavalli presenti nella stessa azienda in cui si trova il caso confermato - per il successivo inoltro al CESME.

- effettuare catture esaustive dei culicidi presenti nell'azienda.

Inoltre, nel caso ci si trovi in aree diverse dalle aree con circolazione virale (ACV), il servizio veterinario dell'Azienda USL competente procede a:

- sottoporre a prelievo un campione di equidi presenti nel raggio di 4 km dall'allevamento di equidi con esiti positivi. H campione di animali da prelevare e' calcolato sulla base della Tabella 4. I

campioni di sangue sono inviati all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di competenza con la relativa scheda W03 -Motivo del prelievo [3]: controllo a campione su cavalli stanziali presenti nelle aziende a 4 Km rispetto al focolaio - per il successivo inoltro al CESME.

8.3 Altre evidenze di circolazione del virus West Nile

Ogni qual volta venga sospettata la circolazione del virus in un territorio precedentemente non interessato dall'infezione, sulla base degli esiti degli esami virologici o di ricerca del genoma virale in culicidi e/o nell'avifauna, il servizio veterinario dell'Azienda USL competente per territorio provvede a:

- sottoporre a visita clinica tutti gli equidi presenti nel raggio di 4 km dal sito in cui la positività è stata rilevata,
- sottoporre a prelievo un campione di equidi presenti nel raggio di 4 km dal sito in cui la positività è stata rilevata. Il campione di animali da prelevare è calcolato sulla base della Tabella 4. I campioni di sangue sono inviati all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di competenza con la relativa scheda W03 - Motivo del prelievo [3]: controllo a campione su cavalli stanziali presenti nelle aziende a 4 Km rispetto al focolaio - per il successivo inoltro al CESME.

8.4 Controllo su altri animali

Nel caso di rilievo di circolazione virale nelle aree sottoposte a sorveglianza, la Direzione Generale della Sanità Animale e del Farmaco Veterinario, in collaborazione con il CESME ed i servizi veterinari delle Regioni e delle ASL interessate, potrà caso per caso, proporre l'esecuzione di controlli aggiuntivi anche su specie animali diverse da quelle contemplate nei precedenti capitoli.

9 REGISTRAZIONE DEI DATI E FLUSSI INFORMATIVI

Tutti i campioni prelevati per la diagnosi di WND vengono analizzati dal CESME. L'esame di prima istanza (ELISA) per i campioni prelevati nella zona ACV e nella zona di sorveglianza esterna possono essere eseguiti da parte degli IIZZSS previsti nella nota DGSA prot. N. 19116 del 26 settembre 2008. In tal caso gli IIZZSS che eseguono tali analisi provvedono ad aggiornare con gli esiti di laboratorio il Sistema Informativo Nazionale per la notifica dei focolai di malattie animali (SIMAN); l'aggiornamento verrà eseguito con cadenza settimanale. Si ricorda che per accedere al SIMAN è necessario registrarsi. Qualora si sia sprovvisti dell'accesso, il servizio veterinario regionale può inviare richiesta al seguente indirizzo di mail: emergenze.support@izs.it. La modulistica è inoltre disponibile dal sito dedicato alla West Nile all'indirizzo http://sorveglianza.izs.it/emergenze/west_nile/emergenze.htm

9.1 Allevamenti avicoli I gruppi di animali sentinella delle specie aviarie

Per quanto riguarda gli allevamenti avicoli rurali o all'aperto, questi debbono essere preventivamente registrati presso la BDN, anche per il tramite del Sistema Informativo Veterinario (http://sorveglianza.izs.it/emergenze/west_nile/caricamento_dati.htm)

Per quanto concerne i gruppi di animali sentinella delle specie aviarie, nel caso in cui le sentinelle siano posizionate all'interno di aziende zootecniche, il gruppo verrà identificato dallo stesso codice aziendale attribuito all'azienda zootecnica ospitante e registrato in BDN. In caso contrario il gruppo di sentinelle dovrà

comunque essere registrato in BDN come struttura sentinella assegnandogli un codice aziendale.

A ciascun sottogruppo e' attribuito un numero progressivo di identificazione, da mantenere fisso per tutta la durata dei controlli. Ogni singolo animale dovra' essere contraddistinto da un numero univoco (per esempio utilizzando un anello da posizionare alla zampa), che sara' utilizzato per tutta la durata del campionamento.

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

9.2 Sorveglianza su uccelli "sinantropici"

I campioni prelevati da uccelli appartenenti a specie "sinantropiche" ai sensi dei capitoli 3.2, 4.2 e 5.2 del presente documento devono essere accompagnati dalla scheda W02 debitamente compilata.

9.3 Sorveglianza tramite cavalli sentinella

Le informazioni relative agli allevamenti ed ai cavalli selezionati debbono essere preventivamente registrati in BDN utilizzando come codice identificativo il microchip o il passaporto.

I campioni devono essere accompagnati dalla scheda W03 pre-compilata per tutti i dati anagrafici, che potra' essere stampata dalla BDN anche per il tramite del sistema informativo nazionale.

9.4 Equini - sorveglianza sindromica (sindromi neurologiche e cavalli deceduti o soppressi)

Il Servizio Veterinario dell'AUSL preleva, secondo le modalita' descritte nel capitolo 6 del presente documento, i campioni di siero, sangue e organi nelle aziende equine dove si sono verificati casi riferibili a WND. I campioni devono essere accompagnati dalla scheda W03 e consegnati all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale territorialmente competente che li invia al CESME.

9.5 Insetti

Il Servizio Veterinario dell'AUSL preleva, secondo le modalita' descritte nei capitoli 3.5, 4.5 e 5.5, i campioni di insetti nelle aziende prescelte. I campioni devono essere accompagnati dalla scheda W05 e consegnati all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale territorialmente competente che li invia al CESME.

Altre attivita'

Le Regioni interessate concordano con il CESME e con la Direzione Generale della Sanita' Animale e del Farmaco Veterinario le modalita' operative per l'attuazione delle seguenti attivita' di studio:

- definizione del ruolo degli uccelli migratori: sorveglianza sugli uccelli migratori per l'individuazione delle specie responsabili dell'introduzione e dell'amplificazione del virus della West Nile,
- studio entomologico: individuare le specie di zanzare responsabili della trasmissione del WNV, sia nel ciclo epizootico che enzootico della malattia, e la loro capacita' di overwintering (del vettore e del virus) nelle aree con circolazione virale,
- studio su altre specie vertebrate: valutazione del sistema di sorveglianza basato su animali sentinella come indicatore della presenza dell'infezione.

SEZIONE IV - MODALITA' DI CATTURA / GESTIONE DEL CAMPIONE ENTOMOLOGICO.

Linee guida per l'effettuazione delle catture entomologiche e gestione del campione

Modalita' di cattura:

• CDC light-trap con CO₂:

e' composta da un sistema di aspirazione costituito da un tubo cilindrico alla cui sommita' e' posta una apertura tale da consentire l'entrata alle zanzare. Nella parte opposta del tubo c'e' una ventola (per spingere le zanzare dentro la sacca sottostante) azionata da un motorino elettrico a batterie (4 pile torcia).

E' utilizzata per catturare esemplari adulti appartenenti a differenti specie di Culicidi.

Preferibilmente deve essere posizionata ad 1mt e 1/2 di altezza, in prossimita' dei ricoveri degli animali presenti in azienda o dove gli stessi stazionano piu' frequentemente.

La luce rappresenta l'attrattivo per la cattura delle specie notturne, la CO₂ (che puo' essere aggiunta alla CDC all'interno di un termos da appendere vicino al sito d'ingresso delle zanzare, sostituendo il tappo con una garza) puo' essere utilizzata per le catture notturne in aggiunta alla luce per potenziare il potere attrattivo della trappola.

La trappola deve essere attivata (dal pomeriggio alla mattina successiva, per due notti consecutive); le catture vengono ritirate al termine di ogni notte (2 raccolte distinte).

• Gravid trap:

e' composta da un sistema di aspirazione (tubo cilindrico dotato da una parte di ventola e dalla parte opposta di una retina per la raccolta delle zanzare simile a quello della CDC light-trap) che poggia su un catino al cui interno vi e' dell'acqua stagnante utilizzata come attrattivo (miscela composta da: acqua, lievito di birra e fieno, il tutto lasciato a macerare per 1 o 2 giorni).

Viene usata per catturare le femmine gravide (soprattutto del genere Culex) che, dovendo deporre le uova, si avvicinano all'acqua. In questo modo e' possibile collezionare femmine adulte che hanno compiuto e digerito almeno un pasto di sangue, e potrebbero albergare il virus nelle ghiandole salivari. Nel tardo pomeriggio sono attrattive soprattutto per Culex spp., durante le ore mattutine possono anche attrarre altre specie come Ochlerotatus spp. e Aedes spp.

Preferibilmente deve essere posizionata in zone protette da condizioni ambientali avverse (forte vento, sole diretto o pioggia diretta) e in vicinanza dei ricoveri degli animali.

In questo caso la trappola deve rimanere attiva per due giorni e due notti consecutive; le catture vengono ritirate al termine delle due giornate (1 sola raccolta).

• BG sentinel:

Trappola originariamente progettata per catturare la zanzara responsabile della febbre gialla (Aedes aegypti), ma efficace anche nei confronti di altre zanzare quali Aedes albopictus (zanzara tigre) Deve essere posizionata a terra e preferibilmente in vicinanza dei ricoveri degli animali.

E' dotata di un sistema di aspirazione e normalmente e' usata in combinazione con un attrattivo artificiale che simula il sudore umano (combinazione di acido lattico, ammoniaca e altre sostanze organiche). L'attrattivo viene inserito all'interno della trappola, nell'apposito alloggiamento. La miscela di odori attrattivi che viene emanata si diffonde nell'ambiente attraverso la garza che copre la trappola. Al centro della garza si trova un'apertura che permette di

applicare un imbuto nero. In tal modo le zanzare vengono guidate nel sacchetto di cattura situato sotto l'apertura.

La trappola deve essere attivata per due giorni e due notti consecutive; le catture vengono ritirate o al termine dei due giorni (1 unica raccolta).

- Aspirazione

Questo metodo e' utilizzato per collezionare femmine adulte ingorgate (cioe' che hanno fatto il pasto di sangue e che cominciano a digerirlo) all'interno dei siti di riposo (soprattutto lungo le pareti/soffitti di box, di pollai o di ogni tipo di ricovero animale) durante le prime ore della mattina.

Si puo' utilizzare un aspiratore a bocca o elettrico.

L'aspiratore a bocca e' costituito essenzialmente da un tubo di plexiglass di - 1,5 cm. Ø e di - 40 cm. di lunghezza collegato con un tubo flessibile di gomma per l'aspirazione; tra i due viene posto velo di tulle come filtro. Una volta catturate, le zanzare vengono riposte in un bicchiere di carta/plastica chiuso superiormente con del tulle fissato con un elastico e sul cui fondo e' stato praticato un foro tale da permettere l'inserimento del tubo dell'aspiratore: il foro poi si puo' riempire con cotone o carta per impedire la fuga delle zanzare.

- Raccolte larvali

Si possono effettuare in azienda e/o in focolai larvali⁽⁴⁾ siti in zone limitrofe all'azienda stessa.

Il campionamento va effettuato mediante un apposito "pescalarve" standard (in alternativa anche contenitori di plastica, o mestoli) montati su manici di lunghezza appropriata per prelevare l'acqua con le larve dal focolaio. In presenza di raccolte d'acqua estese quali stagni, impaludamenti, canali di bonifica, ecc. gli stadi acquatici delle zanzare vanno cercati solamente lungo i bordi erbosi o in pozze isolate dal corpo d'acqua principale. Usualmente solo le larve di 4 stadio (cioe' quelle di maggiori dimensioni) sono utili per l'identificazione di specie.

(⁴) E' definito come focolaio larvale qualunque raccolta d'acqua (naturale o artificiale, temporanea o perenne) nella quale vengano rinvenute, anche sporadicamente, larve di zanzara (ad es. aree allagate aperte, aree allagate boschive, stagni o pozze, rigagnoli e ruscelli, canali d'irrigazione, vasche, abbeveratoi, canalette di scolo e contenitori di varia natura).

CATTURE IN CASO DI POSITIVITA'

In caso di circolazione virale si devono effettuare, il piu' rapidamente possibile dalla comunicazione della positivita', delle "catture esaustive" volte sia a determinare la composizione della fauna Culicidica del posto, sia a ricercare il virus nelle zanzare, per poter identificare le specie responsabili della trasmissione del WNV. Per il raggiungimento di quest' obiettivo si utilizzano le seguenti tipologie cattura:

CDC light-trap con CO₂,

- Gravid trap
- BG sentinel trap
- Aspirazione
- Catture larvali

E' possibile anche utilizzare altre tipologie di cattura, che vanno concordate con il CESME (ad esempio trappole ad esca come le bird-baited traps).

GESTIONE DEL CAMPIONE

Gli adulti uccisi per congelamento (-20 C° per il tempo necessario, da 10 min a 1 ora), vanno riposti in provette tipo Falcon, tra due

strati di cotone idrofilo non eccessivamente pigiato.
La provetta deve contenere per circa 1/4 del suo volume del gel di silice o altro disseccante per evitare la formazione di muffe. I due strati di cotone, posti senza comprimere il campione, dovranno essere posti in maniera tale da impedire movimenti durante la spedizione che comporterebbero la perdita dei caratteri utili all'identificazione.
Le larve prelevate devono essere poste in alcool etilico al 70% in provette sufficientemente capienti a chiusura ermetica.
In caso di catture in seguito a positività le zanzare adulte devono essere uccise preferibilmente a -80°C, o in alternativa stordite/uccise a -20°C per pochi minuti, per evitare di uccidere anche il virus eventualmente presente e compromettere l'isolamento virale. I campioni devono poi essere conservati ed inviati refrigerati (+4°C).
I campioni devono essere etichettati (tipo di trappola, luogo e data) e accompagnati dalla scheda W05. Va utilizzata una scheda W05 per ogni data di cattura. Per data di cattura si intende la data della mattina in cui si raccolgono gli insetti (es. trappola BG-Sentinel accesa il 01 gennaio, insetti raccolti il 03 gennaio: data cattura 03 gennaio).

SEZIONE V- MODULISTICA

La modulistica è reperibile al seguente indirizzo web:
http://sorveglianza.izs.it/emergenze/west_nile/stampa_modelli/stampa_modelli.htm