

PIANO REGIONALE DI SORVEGLIANZA WEST NILE DISEASE, USUTU ED ALTRE ARBOVIROSI

1. SORVEGLIANZA WEST NILE DISEASE ED ALTRE ARBOVIROSI

Il virus West Nile (WNV) è stato segnalato in Europa a partire dal 1958 ed è considerato il flavivirus più diffuso al mondo. Il meno noto virus Usutu (USUV), anch'esso un flavivirus, è stato osservato per la prima volta in Europa nel 1996, con un tasso di mortalità significativa tra le popolazioni di alcune specie di uccelli in Italia e successivamente in Austria ed altri paesi europei.

I due virus differiscono sostanzialmente sia per l'associazione con fenomeni di elevata mortalità in uccelli, frequenti nel caso dell'USUV e rari per il WNV, sia in termini di impatto sulla sanità pubblica: se il WNV è responsabile di casi umani con sintomi neurologici gravi, la capacità di indurre forme cliniche neuroinvasive da parte dell'USUV è, ad oggi, limitata a poche segnalazioni sporadiche in Emilia Romagna.

Tuttavia, i due virus condividono cicli di trasmissione simili, sono entrambi agenti zoonotici il cui ciclo biologico è caratterizzato dalla trasmissione tra zanzare ornitofiliche (soprattutto *Culex* spp.) ed alcune specie di uccelli selvatici che possono fungere da serbatoio ed amplificatore dell'infezione virale.

I virus possono passare dalle popolazioni aviarie ai mammiferi, incluso l'uomo, attraverso i cosiddetti vettori-ponte, ovvero zanzare che compiono il pasto sia sugli uccelli che sui mammiferi.

I mammiferi sono ospiti a fondo cieco, ovvero possono infettarsi e sviluppare malattia, ma non trasmettono il virus.

Le analogie tra WNV e USUV includono anche un'elevata somiglianza nella sequenza aminoacidica della proteina dell'*envelope*. Studi di sieroneutralizzazione suggeriscono che i due virus possano interagire immunologicamente all'interno dell'ospite.

In considerazione della complessità del ciclo biologico del WNV e dell'USUV, la sorveglianza mirata a rilevare la circolazione virale rende indispensabile l'interazione tra diverse professionalità e l'integrazione dei sistemi di sorveglianza in diversi ambiti: entomologico, veterinario ed umano.

Viste le positività a WNV e USUV riscontrate sul territorio della Regione Toscana nel 2022, nonché la nota ministeriale prot. 0000185-04/01/2023-DGSAF-MDS-P, tutto il territorio regionale è classificato ad alto rischio di trasmissione (AR), comprendendo anche le provincie di Prato e Pistoia che erano precedentemente classificate a minor rischio.

La rilevazione di positività comporta una rivalutazione della sorveglianza ad opera della Regione Toscana e dell'Osservatorio Epidemiologico regionale in Sanità Pubblica Veterinaria, al fine di verificare se quanto previsto ed effettuato ai sensi del presente piano sia utile a comprendere l'estensione territoriale della circolazione virale.

Nei casi ritenuti opportuni la Regione può stabilire, con nota del dirigente, una rimodulazione temporanea o definitiva della sorveglianza prevista dal presente Piano.

Obiettivo del Piano di sorveglianza regionale

L'obiettivo è il tempestivo riscontro della circolazione virale (early detection) per l'immediata implementazione di misure di prevenzione atte a contrastare la diffusione del virus e prevenire il verificarsi di casi umani.

Articolazione del Piano di sorveglianza regionale

Il Piano di sorveglianza regionale si articola nei principali ambiti di seguito elencati:

- Sorveglianza dei casi umani
- Sorveglianza veterinaria:
 - sorveglianza negli equidi
 - sorveglianza sull'avifauna selvatica
- Sorveglianza entomologica
- Sorveglianza introduzione zanzare alloctone possibili vettori di arbovirosi

2. SORVEGLIANZA DEI CASI UMANI

Forme cliniche di malattia neuro-invasiva umana

I casi probabili e confermati di WNV e USUV dovranno essere oggetto di segnalazione secondo le definizioni di caso illustrate dalla tabella n. 1.

Il flusso di informazioni relativo alla sorveglianza viene attivato alla sola presenza dei criteri clinici ed epidemiologici.

Tabella 1 - Definizione di caso umano di arbovirosi e di focolaio epidemico

Definizione di caso West Nile e Usutu	
Criterio clinico	Qualsiasi persona che presenti febbre o almeno una delle seguenti manifestazioni cliniche: <ul style="list-style-type: none">• encefalite• meningite a liquor limpido• poliradicolo-neurite (simil Guillain-Barré)• paralisi flaccida acuta
Criteri di laboratorio	Test di laboratorio per caso probabile: <ul style="list-style-type: none">• risposta anticorpale IgM specifica al WNV e/o USUV nel siero Test di laboratorio per caso confermato (almeno uno dei seguenti): <ul style="list-style-type: none">• isolamento del WNV nel siero, nelle urine e/o nel liquor• identificazione dell'acido nucleico del WNV e/o USUV nel sangue, nelle urine e/o nel liquor• risposta anticorpale specifica al WNV e/o USUV (IgM) nel liquor• titolo elevato di IgM WNV e /o USUV• identificazione di IgG WNV e/o USUV con sieroconversione nel siero e conferma mediante neutralizzazione
Classificazione	
Possibile	Non applicabile
Probabile	Persona che soddisfa il criterio clinico e il criterio di laboratorio per caso probabile
Confermato	Persona che soddisfa almeno uno dei criteri di laboratorio per caso confermato

La sorveglianza dei casi umani importati ed autoctoni si attua su tutto il territorio regionale per tutto l'anno.

Durante il periodo di maggiore attività del vettore (dall'inizio di marzo alla fine di novembre) la sorveglianza dei casi umani deve essere rafforzata.

L'inizio deve essere anticipato a seguito di reperimento di WNV in equini, uccelli o vettori nei mesi precedenti a quelli indicati.

In caso di pazienti affetti da encefaliti, meningiti a liquor limpido, poliradicoloneuriti (simil Guillain-Barré), paralisi flaccide acute, WNV e USUV devono essere **sempre** considerate nella diagnosi differenziale.

Tutte le possibili infezioni da virus West Nile devono essere testate anche per USUV e viceversa.

Al fine di individuare tempestivamente i casi di malattia, i campioni biologici prelevati dai pazienti devono essere inviati in tempi rapidi, massimo **entro 24 ore** dal sospetto diagnostico, ai laboratori di riferimento regionale di seguito indicati.

I campioni di sangue, siero, liquido cefalorachidiano (LCR) e urine vanno conservati a temperatura refrigerata (2/8°C), fino al loro invio.

Indagini di laboratorio da eseguire in caso di sospetto diagnostico

Il WNV e USUV appartengono alla famiglia dei *Flaviviridae*; i vettori principali risultano essere le zanzare del complesso *Culex pipiens*.

Il periodo di incubazione varia fra 2 e 14 giorni, ma può essere anche di 21 giorni nei soggetti con deficit a carico del sistema immunitario.

La diagnosi si basa su indagine diretta e analisi sierologica:

- test molecolare (PCR, real time PCR) su liquido cefalorachidiano, sangue, urine;
- ricerca IgM* specifiche nel liquido cefalorachidiano;
- ricerca IgM* ed IgG specifiche nel siero, tramite ELISA o immunofluorescenza e neutralizzazione per conferma;
- siero-conversione o aumento significativo degli anticorpi specifici in coppie di campioni di siero prelevate a distanza di 2 settimane.

* *non esistono Kit commerciali per saggiare IgM anti Usutu virus. Esecuzione del saggio "in house", se disponibile.*

Diagnosi differenziale con altre forme di meningoencefalite a liquor limpido

Meningoencefalite/ meningite da Toscana Virus (TOSV)

Il virus Toscana appartiene alla famiglia *Phenuiviridae* ed è trasmesso da flebotomi diffusi sul territorio nazionale. Il periodo di incubazione varia da 3 a 14 giorni. La maggior parte delle infezioni è asintomatica o paucisintomatica con manifestazioni simil influenzali, tuttavia in alcuni casi, il virus può causare meningite o meningoencefalite, generalmente a decorso benigno. Manifestazioni atipiche di infezione da Toscana virus sono: idrocefalo, sindrome simil Guillain Barré, radicolopatia e orchite.

La diagnosi si basa su indagine diretta e analisi sierologica:

- test molecolare (PCR, real time PCR) su liquido cefalorachidiano, siero, urine;
- ricerca IgM specifiche nel liquido cefalorachidiano;
- ricerca IgM ed IgG specifiche nel siero, tramite ELISA o immunofluorescenza;
- siero-conversione o aumento significativo degli anticorpi specifici in coppie di campioni di prelevate a distanza di 2 settimane.

Encefalite virale da zecche (TBE)

L'encefalite virale da zecche è una malattia infettiva virale trasmessa dalla zecca (*Ixodes ricinus*), endemica in molti Paesi dell'Europa centro-orientale e settentrionale e in alcune aree montane del Nord-Est Italia. Il TBE virus appartiene alla famiglia dei *Flaviviridae*. Il periodo di incubazione dura in media 7 giorni, ma può prolungarsi fino a 28 giorni. Nella maggior parte dei casi l'infezione è asintomatica. Nei casi clinici si ha una prima fase viremica media di circa 5 giorni (da 2 a 10 gg) ed è associata a sintomi quali febbre, affaticamento, mialgia, nausea, seguita da un intervallo asintomatico di circa una settimana. La seconda fase interessa il sistema nervoso centrale, con meningite, meningoencefalite, mielite, paralisi, radicolite.

La diagnosi si basa su indagine diretta e analisi sierologica:

- test molecolare (PCR, real time PCR) su liquido cefalorachidiano, urine e siero
- ricerca IgM specifiche nel liquido cefalorachidiano;
- ricerca IgM ed IgG specifiche nel siero, tramite ELISA o immunofluorescenza;
- siero-conversione o aumento significativo degli anticorpi specifici in coppie di campioni di siero prelevate a distanza di 2 settimane.

Altre arbovirosi

Al fine di individuare tempestivamente i casi sospetti d'importazione di Chikungunya, Dengue e Zika virus, di soggetti sintomatici che rientrano da un Paese ove le malattie sono endemiche o epidemiche, la sorveglianza deve essere attiva per tutto l'anno. In particolare, il test diagnostico per Zika virus è consigliato per le gestanti che hanno viaggiato o che hanno avuto rapporti con un partner che ha viaggiato nei Paesi endemici.

Ai fini della definizione di caso importato, la data di rientro dall'estero deve essere avvenuta nei 15 giorni precedenti l'esordio sintomi.

Modalità di segnalazione dei casi

In presenza di un **caso sospetto o confermato** il flusso di segnalazione è il seguente: il medico che sospetta il caso sulla base delle evidenze cliniche [*forme cliniche caratterizzate da encefalite, meningite, poliradiculoneurite (sindrome di Guillain Barre atipica), paralisi flaccida acuta*] ed epidemiologiche, deve segnalarlo al Servizio di Igiene Pubblica del Dipartimento di Prevenzione della Az. USL territorialmente competente **entro 12 ore** ed inviare i campioni per la diagnosi di laboratorio **entro 24 ore** dal sospetto diagnostico ai laboratori di riferimento regionale:

- Microbiologia e virologia AOU Careggi
- Microbiologia e virologia AOU Senese
- Virologia AOU Pisana

In caso di positività per uno dei criteri di laboratorio previsti dalla definizione di caso probabile (v. Tabella 1), il Servizio di Igiene Pubblica presso il Dipartimento di Prevenzione territorialmente competente **entro 24 ore**:

- invia la segnalazione, utilizzando l'apposita "Scheda per la segnalazione di un caso umano di infezione da virus West Nile e Usutu" contenuta nel Piano Nazionale di prevenzione, sorveglianza e risposta alle Arbovirosi (PNA) 2020-2025 – nota del Ministero della Salute prot. 0003789-17/02/2020-DGSAF-MDS-P - alla Regione all'indirizzo e-mail vaccinazionirt@regione.toscana.it
- inserisce il caso sulla piattaforma di sorveglianza delle arbovirosi dell'Istituto Superiore di Sanità all'indirizzo web <https://www.iss.it/site/rmi/arbo/> e sul portale NSIS-Premal.

Solo nel caso in cui non sia possibile l'invio tramite il sito web (esempio: mancanza di accesso ad internet o non disponibilità delle credenziali di accesso al sito), sarà possibile inviare la "Scheda per la segnalazione di un caso umano di infezione da virus West Nile e Usutu" contenuta nel Piano Nazionale di prevenzione, sorveglianza e risposta alle Arbovirosi (PNA) 2020-2025 – nota del Ministero della Salute prot. 0003789-17/02/2020-DGSAF-MDS-P - via fax o email sia al Ministero della Salute (fax: 06 59943096 e-mail: malinf@sanita.it) che all'ISS (fax 06 49902476 email: sorveglianza.arbovirosi@iss.it).

Nell'eventualità di una conferma, le schede nella piattaforma web <https://www.iss.it/site/rmi/arbo/> e sul portale NSIS-Premal dovranno essere aggiornate e ritrasmesse immediatamente secondo il flusso descritto.

Flusso Laboratorio Regionale

Se la conferma del caso viene effettuata presso il laboratorio di riferimento regionale, questo invierà i risultati degli esami effettuati all' Az. USL richiedente e alla Regione.

Qualora invece il laboratorio di Riferimento Nazionale per gli Arbovirus riceva campioni biologici, questo eseguirà i saggi di conferma e trasmetterà i risultati alla Regione e al laboratorio di riferimento regionale.

Le Az. USL provvederanno quindi ad aggiornare la scheda nella piattaforma web <https://www.iss.it/site/rmi/arbo/> e sul Portale NSIS-Premal.

I casi probabili e confermati dovranno essere comunicati con la massima tempestività.

Si sottolinea che la tempestività della segnalazione all' Az. USL e dell'eventuale conferma di positività dei casi è cruciale al fine di allertare la rete di sorveglianza integrata medico veterinaria ed entomologica per l'attuazione delle misure di prevenzione e controllo della malattia e del vettore (ad esempio, NAT sulle donazioni di sangue/emocomponenti, cellule, tessuti ed organi e lotta all'insetto vettore).

Follow-up

Su tutti i casi probabili o confermati va effettuato un follow-up da aggiornare a 30 giorni e va, di conseguenza, aggiornata la scheda di segnalazione del caso all'interno della piattaforma web <https://www.iss.it/site/rmi/arbo/>. Ai fini della sorveglianza, si raccomanda di indicare come "deceduti" solo casi notificati per cui il decesso è ragionevolmente attribuibile all'infezione da WNV o USUV.

Misure da adottare in caso di positività

In presenza di un caso positivo il Dipartimento di Prevenzione (Area IPN e SPV-SA) decide le azioni da intraprendere avvalendosi delle competenze entomologiche disponibili sul territorio e dei Comuni ai quali è demandata l'attività di controllo del vettore, come previsto dal Piano Regionale di prevenzione, sorveglianza e risposta alle Arbovirosi (DGRT n.582/2022).

In caso di positività è necessario che:

- il Dipartimento di Prevenzione informi i Comuni, per come previsto dalla DGRT n. 582/2022 e dall'Allegato 8 del PNA, per la rivalutazione e il rafforzamento delle misure finalizzate a prevenire la trasmissione dell'infezione e le azioni mirate contro il vettore;
- l'Azienda Usl informi i Medici di Medicina Generale, i Pediatri di Libera Scelta e le Direzioni Ospedaliere dei casi di positività riscontrati nel territorio di loro competenza;
- il Centro Regionale Sangue e il Centro Regionale Trapianti, in accordo con i rispettivi Centri Nazionali, attivino le misure nei confronti delle donazioni di sangue ed emocomponenti (v. par. 3.9 "*Misure nei confronti delle donazioni di sangue ed emocomponenti, organi e tessuti*" del Piano Nazionale Arbovirosi 2020 – 2025).

Si riporta di seguito uno schema riepilogativo del flusso di segnalazione caso umano di WNV e USUV sopra descritto:

Attore	Azioni
Medico segnalatore	Segnala il caso sospetto (alla sola presenza dei criteri clinici ed epidemiologici) alla IPN di competenza entro 12 ore
	Invia campioni al laboratorio di riferimento
Dipartimento di Prevenzione- Area IPN	In caso di positività, segnala entro 24 ore del caso <u>probabile</u> o <u>confermato</u> e ogni eventuale aggiornamento a: - Portale Arbovirosi (ISS) https://www.iss.it/site/rmi/arbo/ - NSIS-PREMAL - Regione: vaccinazionirt@regione.toscana.it
	Informa i Comuni per la valutazione delle misure preventive da adottare contro il vettore
	Informa i MMG, i PLS e le Direzioni Ospedaliere
	A 30 gg dalla segnalazione aggiorna la scheda di sorveglianza con l'esito del caso al <i>follow-up</i>
Centro Regionale Sangue Centro Regionale Trapianti	Attivano le misure necessarie, in accordo con i rispettivi Centri Nazionali

3. SORVEGLIANZA VETERINARIA

Sorveglianza negli equidi

A causa della diffusa pratica della vaccinazione, in Regione Toscana viene effettuata esclusivamente la sorveglianza clinica (passiva), basata sulla rilevazione della sintomatologia neurologica, e non si ricorre all'utilizzo di cavalli sentinella.

Tutti i casi di sintomatologia nervosa negli equidi devono essere immediatamente segnalati dai responsabili di equidi (operatori, veterinari e pertinenti persone fisiche e giuridiche) all'UF SPV e SA della Az. USL.

Ai fini della sorveglianza passiva, l'Az. USL provvede affinché ogni caso sospetto/segnalato di West Nile sia sottoposto ad indagini approfondite per escludere o confermare l'infezione.

Sono da ritenere sospetti di West Nile tutti i cavalli che presentino sintomatologia nervosa non riferibile ad altra malattia e/o risultati positivi al test ELISA IgM anche in assenza di sintomatologia clinica.

La malattia negli equidi può comprendere uno o più dei seguenti sintomi caratteristici:

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

Il Veterinario dell'Az. USL che riceve la segnalazione, verifica la fondatezza del sospetto ed eventualmente sottopone l'animale/ gli animali sintomatico/i e/o deceduto/i ad accertamenti diagnostici, ovvero provvede almeno a:

- effettuare prelievi di sangue con e senza anticoagulante EDTA,
- comunicare il sospetto al competente ufficio della Regione Toscana,
- registrare il sospetto nel Sistema Informativo Nazionale Malattie Animali (SIMAN),
- avviare ed inserire in SIMAN l'indagine epidemiologica.

Qualora il sospetto riguardi animali deceduti o soppressi in seguito a sindrome neurologica, il servizio veterinario dell'Az. USL competente per territorio, in collaborazione con l'IZSLT esegue l'esame anatomico-patologico ed il prelievo del cervello, del tronco encefalico, del midollo spinale, del cuore, del rene e della milza.

Anche in questi casi il sospetto deve essere notificato per le vie brevi alla Regione, deve essere registrato nel Sistema Informativo Nazionale Malattie Animali (SIMAN) con le stesse modalità previste per i sospetti clinici di cui sopra e deve essere associato a indagine epidemiologica.

I campioni di sangue e/o organi, con la relativa scheda W03 – *Motivo del prelievo [A]: “equidi con sintomi clinici” o [C]: “controllo su equidi deceduti/abbattuti”*, devono essere inviati alla sede dell'IZSLT competente per territorio.

Le schede di accompagnamento campioni e le schede di indagine epidemiologica sono disponibili su Vetinfo.

Iter diagnostico di laboratorio e flussi informativi - equidi

L'IZSLT provvederà ad effettuare la prova di ELISA-IgM sui campioni di siero e la RT-PCR sui campioni di sangue con EDTA e sui campioni di organi entro 5 giorni dal prelievo.

In caso di positività l'IZSLT notifica quanto prima gli esiti analitici alla Regione e all'Az. USL competente sull'allevamento, ed invia entro e non oltre 2 giorni lavorativi i campioni al CESME.

L'Az. USL provvede a registrare il sospetto focolaio su SIMAN ed informare l'Autorità Comunale circa la rilevazione di circolazione virale WND sul territorio di competenza affinché, in collaborazione con il Dipartimento di Prevenzione, vengano rivalutate e rafforzate le misure di contrasto agli insetti vettori nell'area interessata.

Il CESME effettua gli esami di conferma entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione e trasmette gli esiti alla Regione Toscana e all'IZSLT.

In caso di positività il CESME informa degli esiti anche i competenti uffici del Ministero della Salute, il Centro Nazionale Sangue (CNS) ed il Centro Nazionale Trapianti (CNT).

L'IZSLT trasmette i rapporti di prova del CESME (positivi e/o negativi) all'UF SPA e SA dell'Az. USL competente per territorio sull'allevamento campionato.

Inoltre l'Az. USL provvede a:

- confermare il focolaio su SIMAN,
- notificare la positività al Comune,
- effettuare una visita clinica ed il prelievo di campioni di siero in un campione degli equidi presenti nell'azienda secondo la numerosità riportata in Tabella 2,
- effettuare un campionamento entomologico secondo le indicazioni fornite di volta in volta dall'IZSLT.

Tabella 2: Numerosità campionaria in grado di rilevare una prevalenza di infezione del 10% con un intervallo di confidenza del 95%

Grandezza della popolazione	N. campioni da prelevare
Fino a 10	Tutti
11	10
12	11
13-14	12
15-16	13
17-18	14
19-20	15
21-23	16
24-26	17
27-29	18
30-34	19
35-39	20
40-46	21
47-55	22
56-67	23
68-85	24
86-113	25
114-163	26
164-282	27
283-917	28
918 e oltre	29

I campioni di sangue devono essere inviati all'IZSLT con la relativa scheda W03 – *Motivo del prelievo [E]: “controllo su equidi presenti nella stessa azienda in cui si trova il caso confermato”*.

Essendo gli equidi fondo cieco epidemiologico rispetto alla WND, la rilevazione di sospetti o di malattia è indice di circolazione virale, ma non comporta particolari misure restrittive sui soggetti o sugli allevamenti sospetti o infetti.

L'Az. USL informa gli allevatori prossimi al focolaio dell'opportunità di vaccinare gli equidi e di proteggerli dagli insetti vettori (trattamenti insetto-repellenti e detenzione al riparo nelle ore di maggiore attività dei vettori, ovvero nelle ore serali e notturne).

Il focolaio è estinto alla morte dell'equide infetto o quando i dati di sorveglianza possono escludere ulteriore circolazione virale. Tale valutazione è effettuata dalla Az. USL in accordo con l'Osservatorio Epidemiologico regionale in Sanità Pubblica Veterinaria

In caso di negatività alle prove di screening effettuate dall'IZSLT o alle prove di conferma effettuate dal CESME, l'Az. USL provvede a chiudere l'eventuale sospetto o focolaio aperto in Vetinfo-SIMAN.

L'IZSLT inserisce mensilmente i dati di sorveglianza sugli equidi nel sistema informativo Vetinfo – West Nile.

Sorveglianza sull'avifauna selvatica

La sorveglianza sugli uccelli selvatici si articola in:

- sorveglianza su uccelli selvatici rinvenuti morti
- sorveglianza su uccelli stanziali delle specie bersaglio

Sorveglianza passiva sull'avifauna selvatica

Come previsto anche dal Piano nazionale Arboviroso, la sorveglianza passiva sugli uccelli selvatici si attua su tutto il territorio regionale durante tutto l'anno attraverso la segnalazione ed il controllo diagnostico di tutti gli esemplari di qualsiasi specie/ordine, campionati nell'ambito di episodi di mortalità sospetta o anomala, nonché di tutti gli uccelli rinvenuti morti appartenenti agli ordini dei Passeriformi, Ciconiformi, Caradriformi, Falconiformi e Strigiformi:

- rinvenuti **morti** sul territorio regionale o
- **campionati nell'ambito di altri Piani di controllo** (p. es.: Influenza aviaria) o
- **deceduti** nei Centri di Recupero Animali Selvatici (CRAS).

Gli animali prelevati nell'ambito della sorveglianza passiva potranno essere conferiti interi, direttamente alle sedi dell'IZSLT o per tramite delle Az. USL competenti per territorio. Nel caso gli avicoli fossero pervenuti direttamente all'IZSLT senza essere accompagnati dalla scheda di campionamento, il personale del laboratorio si raccorda con le UF SPV e SA delle Az. USL affinché venga compilata e trasmessa la relativa scheda. Per ogni specie di uccello deve essere redatta una distinta scheda.

Il conferimento dei campioni alla sezione dell'IZSLT territorialmente competente deve avvenire quanto prima e comunque entro le 72 ore dal prelievo. Tutti i campioni devono essere mantenuti a temperatura di refrigerazione fino alla consegna se essa avviene entro le 24 ore dal prelievo, altrimenti dovranno essere congelati.

Sorveglianza attiva su uccelli stanziali delle specie bersaglio

Le **specie bersaglio**, appartenenti all'ordine dei Passeriformi, sono:

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

In ogni area territoriale avente una superficie minima di 1200 km² devono essere campionati **almeno 100 esemplari**. Il prelievo dei campioni nell'ambito della sorveglianza attiva deve avvenire nel periodo da marzo a novembre di ogni anno. I prelievi non devono essere concentrati in un ristretto arco temporale ma devono essere effettuati a cadenza regolare (preferibilmente settimanale o al massimo quindicinale) secondo la ripartizione di seguito riportata:

ASL	Provincia	Superficie totale (Km2)	Numero aree	Numero minimo di esemplari	Ripartizione dei prelievi								
					Marzo	Aprile	Maggio	Giugno	Luglio	Agosto	Settembre	Ottobre	Novembre
Nord Ovest	Massa Carrara	1154,68	1	100	12	12	12	12	12	12	10	10	10
	Lucca	1773,22	1,5	150	18	18	18	18	18	18	15	15	15
	Pisa	2444,72	2	200	25	25	25	25	25	25	20	20	20
	Livorno	1213,71	1	100	12	12	12	12	12	12	10	10	10
Centro	Pistoia	964,12	1	100	12	12	12	12	12	12	10	10	10
	Prato	365,72	0,3	30	3	4	5	5	5	3	2	2	2
	Firenze	3513,69	2,5	250	30	30	30	30	30	30	25	25	25
Sud Est	Arezzo	3233,08	2,5	250	30	30	30	30	30	30	25	25	25
	Siena	3820,98	3	300	35	35	35	35	35	35	30	30	30
	Grosseto	4503,12	3	300	35	35	35	35	35	35	30	30	30

La sorveglianza attiva si avvale degli animali delle specie bersaglio abbattuti nell'ambito dei piani regionali di depopolamento dell'avifauna.

Il conferimento dei campioni alla sezione dell'IZSLT territorialmente competente deve avvenire quanto prima e comunque entro le 72 ore dal prelievo. Tutti i campioni devono essere mantenuti a temperatura di refrigerazione fino alla consegna, se essa avviene entro le 24 ore dal prelievo, altrimenti dovranno essere congelati.

I campioni possono pervenire all'IZSLT direttamente o per tramite delle Az. USL, secondo modalità concordate con l'Az. USL stessa.

Nel caso gli avicoli fossero pervenuti direttamente all'IZSLT senza essere accompagnati dalla scheda di campionamento, il personale del laboratorio si raccorda con le UF SPV e SA delle Az. USL affinché venga compilata e trasmessa la relativa scheda. Per ogni specie di uccello deve essere redatta una distinta scheda.

Iter diagnostico di laboratorio e flussi informativi - avifauna selvatica

L'IZSLT provvede ad effettuare l'esame anatomico-patologico sulle carcasse acquisite in sorveglianza attiva e/o passiva (compresi gli esemplari delle specie bersaglio eventualmente campionati nell'ambito di altri Piani), ed esami RT-PCR per WNV e USUV sui relativi organi target.

In caso di positività l'IZSLT notifica quanto prima gli esiti analitici alla Regione ed all'Az. USL competente ed invia, entro e non oltre 2 giorni lavorativi, i campioni positivi (parti di organo, omogenato, RNA) al CESME.

L'Az. USL provvede a registrare il sospetto focolaio su SIMAN ed informare l'Autorità Comunale circa la rilevazione di circolazione virale WND sul territorio di competenza affinché, in collaborazione con il Dipartimento di Prevenzione, vengano rivalutate e rafforzate le misure di contrasto agli insetti vettori nell'area interessata.

Il CESME effettua gli esami di conferma entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione e trasmette gli esiti alla Regione Toscana e all'IZSLT.

In caso di positività il CESME informa degli esiti anche i competenti uffici del Ministero della Salute, il Centro Nazionale Sangue (CNS) ed il Centro Nazionale Trapianti (CNT).

L'IZSLT trasmette i rapporti di prova del CESME (positivi e/o negativi) all'UF SPA e SA dell'Az. USL competente sul territorio di prelievo degli animali positivi.

L'Az. USL conferma il focolaio nel Sistema Informativo Nazionale Malattie Animali (SIMAN) e ne informa l'Autorità Comunale.

Il focolaio è estinto quando i dati di sorveglianza possono escludere ulteriore circolazione virale. Tale valutazione è effettuata dalla Az. USL in accordo con l'Osservatorio Epidemiologico regionale in Sanità Pubblica Veterinaria.

In caso di negatività alle prove di screening effettuate dall'IZSLT o alle prove di conferma effettuate dal CESME, l'Az. USL provvede a chiudere l'eventuale sospetto o focolaio aperto in SIMAN.

L'IZSLT inserisce mensilmente i dati di sorveglianza sull'avifauna selvatica nel sistema informativo Vetinfo – West Nile.

4. SORVEGLIANZA ENTOMOLOGICA

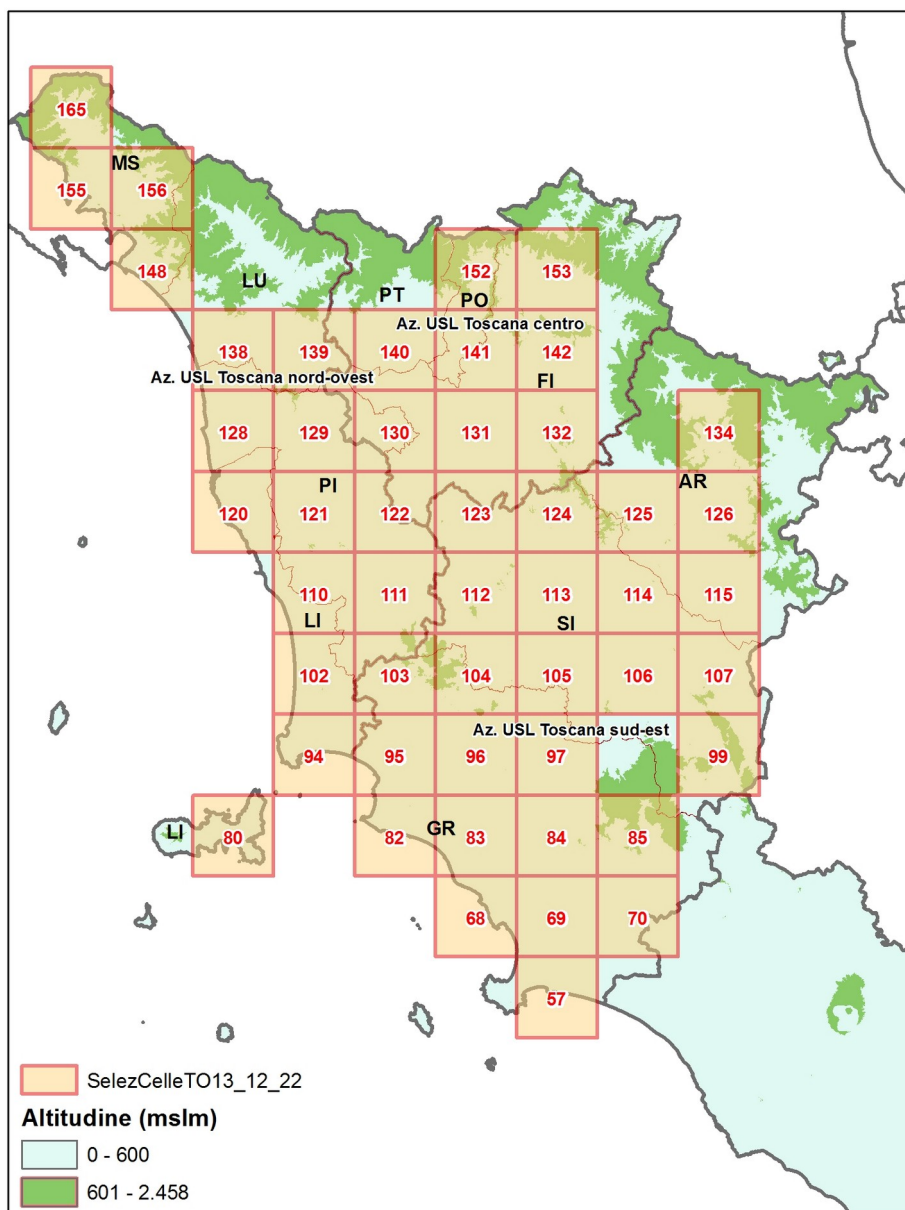
Tenendo conto del limite di 600 mt altitudinali e delle caratteristiche ambientali quali fattori di rischio per la presenza dei vettori West Nile (es. presenza di aree umide), il territorio regionale è

stato suddiviso in celle quadrate con lato di 20 Km o area pari a 400 Km² come riportato in *mappa A*.

All'interno di ciascuna unità geografica così identificata è posizionata almeno n. 1 trappola tipo CDC innescata con CO₂.

Nel periodo 01 aprile – 30 novembre il personale dell'AF SPV e SA dell'Az. USL in collaborazione con l'IZSLT posiziona tali trappole ed effettua le catture ogni 15 giorni. Le trappole devono essere attive per almeno una notte (dal crepuscolo alla mattina successiva). In caso di più notti di cattura, le zanzare sono raccolte al termine di ogni notte di cattura. I campioni, accompagnati della scheda W05 (scaricabile dal sistema Vetinfo), devono essere inviati alla sezione dell'IZSLT competente per territorio quanto prima e comunque entro le 72 ore dal prelievo e mantenuti a temperatura di refrigerazione fino alla consegna.

Mappa A



In caso di positività l'IZSLT notifica quanto prima gli esiti analitici alla Regione e all'Az. USL competente per territorio ed invia entro e non oltre 2 giorni lavorativi i campioni al CESME.

L'Az. USL deve informare l'Autorità Comunale affinché, in collaborazione con il Dipartimento di Prevenzione, vengano rivalutate e rafforzate le misure di contrasto agli insetti vettori nell'area interessata.

Il CESME deve effettuare gli esami di conferma entro 7 giorni lavorativi dal ricevimento del campione e trasmettere gli esiti alla Regione Toscana e all'IZSLT.

In caso di positività il CESME informa degli esiti anche i competenti uffici del Ministero della Salute, il Centro Nazionale Sangue (CNS) ed il Centro Nazionale Trapianti (CNT).

Al fine di mettere in atto le misure di prevenzione e contrasto alla diffusione dell'infezione, la rilevazione di circolazione virale deve essere comunicata quanto prima dall'IZSLT all'Az. USL competente per territorio e dall'Az. USL al Comune.

L'IZSLT inserisce mensilmente i dati di sorveglianza entomologica nel sistema informativo Vetinfo – West Nile.

I ditteri del genere *Phlebotomus* (pappataci) catturati nell'ambito della sorveglianza entomologica per WNV con le trappole CDC saranno oggetto di approfondimento. A seconda delle numerosità riscontrate, un sotto-campione di questi insetti sarà identificato morfologicamente. Pool di esemplari delle specie note come vettori di *Leishmania infantum* e Toscana Virus (*Phlebotomus perniciosus* e *Phlebotomus perfiliewi*) saranno sottoposti alla ricerca dei due agenti patogeni con tecniche di biologia molecolare.

5. SORVEGLIANZA SULL'INTRODUZIONE DI ZANZARE ALLOCTONE POSSIBILI VETTORI DI ARBOVIROSI

Sorveglianza dei siti a rischio di introduzione di nuove specie di zanzare invasive

Il "Piano Nazionale di prevenzione, sorveglianza e risposta alle Arbovirosi (PNA) 2020-2025" prevede che entro il 2023 gli Enti del Sistema Sanitario Nazionale e le Regioni implementino attività di sorveglianza nei confronti della possibile introduzione di nuove zanzare invasive del genere *Aedes* (es. *Aedes aegypti*, *Aedes koreicus* e *Aedes japonicus*), in quelli che sono considerati possibili punti d'entrata (PoE) quali porti, aeroporti, interporti, dettagliando il tipo di monitoraggio da effettuare in questi siti. La sorveglianza nei confronti di zanzare invasive presso i possibili PoE è peraltro auspicata anche da linee guida internazionali (ECDC: "Guidelines for the surveillance of invasive mosquitoes in Europe") e le epidemie di Chikungunya verificatesi nel nostro Paese nel 2007 (Emilia Romagna) e nel 2017 (Lazio) hanno evidenziato il rischio legato all'introduzione e all'attecchimento di zanzare invasive alloctone (*Aedes albopictus*), vettori di agenti patogeni di notevole rilevanza sanitaria.

Stando ai criteri posti dal PNA 2020-2025, nella Regione Toscana sono diversi i potenziali PoE individuabili, tra porti, aeroporti ed interporti. Tra questi, il Porto di Livorno può essere considerato il PoE potenzialmente a maggior rischio introduzione di zanzare invasive, essendo uno dei porti commerciali più importanti del Mediterraneo, in cui transitano merci da e per tutti i Paesi del mondo, nonché traghetti e navi passeggeri.

In quest'ambito, il Dipartimento di Prevenzione della Az. USL Toscana Nord-Ovest e l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana attiveranno al Porto di Livorno nel 2023 un sistema di monitoraggio volto ad individuare l'eventuale arrivo di zanzare alloctone, con particolare riferimento a quelle del genere *Aedes*, le più pericolose per la loro capacità di essere trasportate passivamente dall'uomo e successivamente attecchire in aree del mondo lontane dai loro areali d'origine e per il loro ruolo come vettori di malattie di primaria rilevanza sanitaria, quali Febbre Gialla, Dengue, Zika e Chikungunya.

Poe Porto di Livorno - Attività

Nel corso del 2023 saranno effettuati sopralluoghi congiunti con le autorità portuali per individuare i siti più idonei al posizionamento di trappole per il monitoraggio. Il numero delle stazioni di monitoraggio verrà definito in base alla situazione ambientale e logistica, e prevederà il posizionamento di ovitrappole nell'area portuale, da ispezionare settimanalmente, cui seguirà l'identificazione morfologica, in modo da evidenziare l'eventuale presenza di zanzare alloctone.

Il rinvenimento di nuove specie invasive dovrà essere immediatamente comunicato alla Regione Toscana, al Ministero della Salute, all'ISS e all'ISPRA per definire nel più breve tempo possibile le misure per la gestione del fenomeno.
