



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA
LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA "BRUNO UBERTINI"

CENTRO EMILIANO ROMAGNOLO DI EPIDEMIOLOGIA VETERINARIA

Lettera di informazione n. 56 - febbraio 2005

IN QUESTO NUMERO:

**Sorveglianza della West Nile Disease in
Emilia-Romagna**

1

Sorveglianza della West Nile Disease in Emilia-Romagna

1. Introduzione

Gli Arbovirus (Arthropod-borne viruses) sono virus mantenuti in natura attraverso un ciclo biologico che comprende ospiti vertebrati e artropodi ematofagi; l'infezione dell'ospite vertebrato (uomo o animale) avviene quando l'artropode fa il suo pasto di sangue. Molti di questi virus mostrano lunghi periodi di invisibilità durante i quali non si riesce a rilevare la loro presenza. In genere si manifestano in episodi isolati, separati tra loro anche da diversi anni, ma talvolta possono esitare in epidemie esplosive.

L'Encefalite West Nile (WN) o West Nile Disease (WND) è una malattia virale, sostenuta da un *Flavivirus*, veicolato dalla puntura di zanzare, in particolare del genere *Culex*. Il ciclo naturale del virus prevede il passaggio tra il vettore ed un elevato numero di specie di uccelli, nei quali può provocare anche una significativa mortalità.

Il virus può infettare diverse specie di vertebrati (mammiferi, uccelli, rettili), tra i mammiferi l'uomo ed il cavallo possono mostrare sintomatologia clinica. Il nome deriva dal fatto che è il virus è stato isolato per la prima volta nel 1937 nel sangue di una donna febbricitante nella provincia di West Nile, in Uganda. Da allora sono stati registrati casi sporadici e focolai importanti in diversi Continenti: Africa; Medio Oriente; Asia e Europa.

Negli ultimi 8-10 anni il numero e la gravità dei focolai segnalati sono significativamente aumentati, soprattutto in seguito all'ingresso del virus in Nord America (USA, Canada e Messico), rendendo la WND un rilevante problema di Sanità Pubblica.

2. Ciclo epidemiologico della WND

Studi filogenetici su una regione del gene codificante la glicoproteina E hanno mostrato l'esistenza di due differenti lineage (con omologia intorno al 70%): il lineage I comprende ceppi WN europei, africani, medio-orientali, nordamericani, indiani e australiani; mentre il lineage II comprende ceppi provenienti solamente dall'Africa subsahariana e dal Madagascar. Questo potrebbe indicare che le epidemie europee potrebbero essere avvenute in seguito all'introduzione di varianti dall'Africa attraverso uccelli migratori, anche se il passaggio inverso non può essere escluso.

Le ragioni dell'assenza di isolati del lineage II al di fuori dell'Africa non sono conosciute.

Il Virus WN è principalmente trasmesso da zanzare in un ciclo che coinvolge gli uccelli come ospiti amplificatori, mentre i mammiferi infettati si comportano come ospiti occasionali a fondo cieco, in quanto non presentano viremia a titolo tale da infettare un vettore competente (Fig. 1). Il virus WN si mantiene nell'ambiente attraverso il continuo passaggio tra gli insetti ematofagi e gli uccelli: le zanzare infettate (con virus a livello delle ghiandole salivari) da uccelli viremici possono a loro volta trasmettere il virus a uccelli suscettibili durante il successivo pasto di sangue. Il virus WN è stato isolato da almeno 43 specie di zanzare appartenenti a 11 generi; anche le zecche in determinate aree geografiche sembrano avere un ruolo nel mantenimento dell'infezione. I vettori maggiormente competenti e più efficaci nella diffusione del virus WN sembrano essere le zanzare del genere *Culex*.

Gli uccelli sono probabilmente il serbatoio dell'infezione; quando infettati presentano una viremia con titoli e durata variabile da genere a genere. Nella maggior parte delle specie la viremia dura 1-4 giorni, dopodiché si instaura una immunità di lunga durata. In Europa la mortalità degli uccelli provocata dal virus WN è un fenomeno piuttosto raro, anche se in Israele è stata rilevata una certa mortalità in oche e cicogne. Al contrario negli USA è stata riscontrata una massiccia mortalità nei corvidi (corvi, cornacchie, ghiandaie) e in uccelli esotici. Negli USA il virus WN è stato isolato da uccelli trovati morti appartenenti a 138 diverse specie.

Il virus WN può infettare anche mammiferi e rettili. Anticorpi contro il virus WN sono stati rinvenuti in uomini, cavalli, cani, gatti, pipistrelli, procioni, conigli, scoiattoli e diverse specie di ruminanti. In genere nei mammiferi l'infezione è asintomatica, talvolta però uomini e cavalli possono manifestare sintomatologia clinica.

Anche gli alligatori sono risultati sensibili, anzi pare che i rettili siano ospiti amplificatori in quanto in grado di sviluppare una viremia di lunga durata.

Come tutte le malattie trasmesse da vettori la WND ha un andamento stagionale; l'*overwintering* (sopravvivenza del virus durante la stagione fredda) si avrebbe attraverso vettori infetti svernanti o ospiti vertebrati con viremia a lunga durata.

Il ciclo di trasmissione del virus WN è piuttosto complesso e in gran parte ancora sconosciuto. Molti fattori sono stati invocati per spiegare la diffusione dell'infezione: la densità degli uccelli e dei vettori, le coltivazioni nel territorio, l'andamento climatico, ecc. Ad ogni modo in Europa i focolai di malattia, a dispetto di un'infezione presente probabilmente da molto tempo, continuano a presentarsi come fenomeni sporadici, limitati nello spazio e nel tempo e abbastanza imprevedibili.

Figura 1 – Ciclo di trasmissione del virus WN

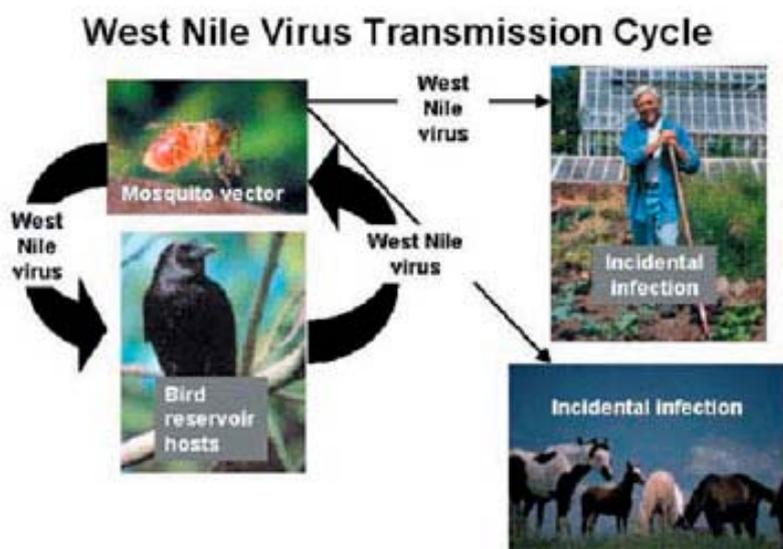


Figure 1: Source: Centers for Disease Control and Prevention

2.2. La WND come zoonosi

La West Nile è un'antropozoonosi. Nell'uomo, il virus WN è responsabile di malattia clinica in una bassa percentuale degli individui infettati (0,2-0,3%). I sintomi, quando presenti, variano da febbre a linfoadenopatia, rash cutaneo ed emicrania a meningite, encefalite, meningoencefalite, coma e morte. Negli individui giovani la malattia decorre per lo più in forma sub-clinica o lieve. Gli unici fattori di rischio finora associati alla malattia sono età e ipertensione. L'infezione avviene generalmente attraverso la puntura di una zanzara infetta; è stata però dimostrata la trasmissione interumana del virus WN attraverso la placenta, il latte materno, le trasfusioni di sangue e il trapianto di organo.

Il virus WN è stato isolato da persone in vari Paesi del Bacino mediterraneo, degli Stati Uniti d'America, dell'India e del continente africano. La malattia è endemica nel delta del Nilo, dove sono colpiti prevalentemente i bambini, mentre gli adulti risultano immuni. In Israele i focolai si presentano invece in forma epidemica, e la sintomatologia si osserva in tutte le fasce di età. In Sudafrica si osserva una situazione intermedia, nel senso che l'encefalite WN si manifesta sporadicamente, sotto forma di brevi, frequenti epidemie.

La più grande epidemia osservata in Europa si è verificata nel 1996 in Romania, dove il virus è stato responsabile di malattia in più di 350 persone, rivelandosi letale in 17 casi (tutti individui sopra i 50 anni di età). Gli ultimi casi umani in Europa, invece, si sono avuti nella Francia del Sud (distretto di Var) nel 2003.

Anche in Russia si è registrato recentemente un grande focolaio di WND, nella regione di Volgograd. Oltre 800 persone sono state ricoverate con meningoencefalite asettica acuta. Un'indagine sierologica ha mostrato una positività del 58% in questi casi. Si sono avuti anche 40 decessi (il 75% in persone sopra i 60 anni).

Assolutamente diversa è la situazione riscontrabile nel Nord America. Il virus è comparso nel settembre 1999 nella città di New York provocando mortalità negli uccelli

(corvidi, in particolare) e casi clinici in cavalli (20 con 9 decessi) e uomini (62 con 7 decessi). Attraverso la mortalità negli uccelli si è visto che il virus ha continuato a circolare durante l'inverno 1999-2000. Nell'autunno del 2000 il virus WN era presente in 12 Stati. Da qui il virus si è rapidamente esteso ad altri Stati; nel 2002 la WND era già presente in 44 Stati degli USA, in Canada, Messico e nei Caraibi (Isole Cayman, Giamaica, Repubblica Dominicana, Guadalupe e Martinica), provocando nei soli USA 4.156 casi umani (284 decessi), 14.717 casi in cavalli (4500 decessi) e oltre 13.000 casi di morte accertata in uccelli.

Nel Nord America il virus WN ha probabilmente trovato una nicchia ecologica che gli permette di sopravvivere all'inverno e di diffondersi progressivamente attraverso gli uccelli selvatici. Ci si attende che in questo continente l'infezione si propaghi ulteriormente verso Nord (Canada) e nell'America Centrale e Meridionale, seguendo uno schema di diffusione che probabilmente si è già verificato nel vecchio mondo.

2.3. La WND in Italia

Fino al 1998, nessun caso clinico o sierologicamente confermato di WND era mai stato segnalato sul territorio nazionale. Tuttavia, il sospetto che un *Flavivirus West Nile*-simile circolasse in Italia era stato sollevato in passato dal riscontro di positività sierologiche in pazienti umani e in capi ovini. Il fatto però che gli anticorpi isolati non fossero mai neutralizzanti avevano portato gli esperti a formulare l'ipotesi che si trattasse di un virus simile ma distinto dal WNV. I tentativi di isolamento del virus da potenziali vettori invertebrati hanno invariabilmente dato esito negativo. Risale al mese di settembre 1998 la prima comunicazione ufficiale di encefalite da WN in alcuni equini allevati in Toscana. Dalle risultanze delle indagini epidemiologiche effettuate, l'epidemia avrebbe avuto inizio già nel mese di agosto; l'ultimo caso invece risale al mese di ottobre. I focolai hanno coinvolto varie province toscane (Tab. 1).

Tabella 1. Focolai di encefalite equina WN in Toscana (agosto - ottobre 1998).

Provincia	N. Focolai	N. Equini colpiti	N. Equini morti*	N. Equini guariti
PISA – FIRENZE	4	7	2	5
LUCCA	2	3	1	2
PISTOIA	3	4	3	1
TOTALE	9	14	6	8

*morte naturale o eutanasia

Le scuderie interessate erano localizzate in terreni attigui o vicini al padule di Fucecchio (FI e PT) e di Bientina (LU e PI). La malattia esordiva con atassia, per poi degenerare in paraplegia, tetraplegia, paralisi flaccida al labbro inferiore, coma e morte (quasi sempre per eutanasia, su richiesta dei proprietari). In genere non si riscontrava febbre. Risultavano colpiti prevalentemente soggetti di sesso femminile, stressati da intensa attività sportiva o debilitati per altri motivi (parassitosi). I soggetti guariti hanno riacquisito, in tempi più o meno lunghi, le normali funzioni sia statiche che dinamiche. Ad indirizzare verso una diagnosi presuntiva di Flavivirus furono in primo luogo le indagini istologiche effettuate presso la Facoltà di Medicina Veterinaria di Pisa. Successivamente, il CESME di Teramo diagnosticò l'encefalomielite WN in seguito al riscontro di positività sierologiche basate sul test della fissazione del complemento (FdC) effettuato su materiale prelevato ai soggetti ammalati. Tale diagnosi fu poi confermata dall'isolamento del WNV da cellule nervose di uno dei cavalli colpiti da parte dell'Istituto Pasteur di Parigi e dalla successiva tipizzazione del virus. Il 20 Settembre la Regione Toscana, con propria ordinanza, instaurò un cordone sanitario che interessava i territori di 20 Comuni delle province interessate (PI, LU, PT, FI). Venne imposto il divieto di spostamento di equini sia in uscita che in entrata, permettendo invece l'attraversamento senza fermata dell'area di protezione e gli spostamenti dei soggetti al suo interno. Furono eseguite accurate disinfestazioni delle scuderie dove si erano verificati i decessi ed in seguito anche degli altri impianti. Il cordone sanitario fu revocato il 19 Novembre '98, quando ormai, a stagione fredda inoltrata, si considerava estinto il focolaio. Nel corso dell'epidemia il CESME di Teramo procedette al prelievo e successivo esame sierologico di campioni di sangue da un numero statisticamente significativo di equini presenti nelle scuderie interessate dai decessi nell'ambito dei 20 comuni compresi nella zona di protezione. I risultati delle analisi sono riportati nella Tabella 2.

Tabella 2. Indagine sierologica effettuata su cavalli presenti nella Zona di Protezione per l'encefalite WN.

N. Campioni esaminati	N. Campioni negativi	N. Campioni positivi in FdC
171	110 (64,33%)	61 (35,67%)

*titoli compresi tra 1:4 e 1:128

Per i soggetti reattivi, i titoli erano in gran parte compresi tra 1:64 e 1:16. I prelievi furono ripetuti a distanza di 20 giorni sui medesimi soggetti. I risultati delle analisi mostrarono un netto calo dei titoli anticorpali, scesi a valori compresi tra 1:4 e 1:8. Dato l'irrigidimento delle temperature, al tempo della diagnosi non fu possibile effettuare indagini su artropodi al fine di isolare il virus e identificare i vettori.

Nel corso dell'epidemia non si verificò alcun caso umano, mentre le indagini sierologiche su persone che, per il loro lavoro, condividevano con i cavalli il rischio delle punture da zanzare hanno rilevato una prevalenza del 3,1% (4 soggetti positivi su 130 esaminati). Nel mese di dicembre 1998, il Centro di Referenza per gli arbovirus e le febbri emorragiche dell'Istituto Pasteur di Parigi concluse la tipizzazione del virus isolato dal focolaio. Il ceppo isolato mostrò un'identità nucleotidica pari al 99,2% con un ceppo senegalese isolato nel 1993 da una zanzara (*Culex neavei*). Tale riscontro indica una correlazione con i virus isolati in Francia (1965), Algeria (1968) e Marocco (1996) e suggerisce l'ipotesi di una introduzione di virus da parte di uccelli migratori che attraversano il Mediterraneo.

Negli anni successivi la sorveglianza sierologica sui cavalli ha rilevato altre sier conversionsi, anche in soggetti nati dopo il 1998, a conferma del fatto che l'infezione è ormai endemica nella zona.

3. Sorveglianza della WND

La sorveglianza della WND in Sanità Pubblica Veterinaria può essere effettuata sia mediante sistemi di sorveglianza passiva (basati sulla diagnosi, supportata da prove di laboratorio, dei casi clinici di WND), sia attraverso l'attivazione di un programma di sorveglianza attiva (creazione di una rete per la rilevazione del virus WN o degli anticorpi indotti dall'infezione WN). Ciascun sistema di sorveglianza deve essere adattato alla situazione epidemiologica, climatica e geografica dell'area considerata.

La maggior parte dei paesi a rischio hanno organizzato un sistema di sorveglianza passiva basato sugli uomini, i cavalli e gli uccelli. La sensibilità dei diversi sistemi di sorveglianza dipende dalla specie animale individuata come sentinella e dal ruolo che essa gioca nell'ambito del ciclo di trasmissione (Fig. 2).

3.1. Sorveglianza sui cavalli

I cavalli sono buone sentinelle per la sorveglianza dell'infezione da virus WN per differenti ragioni. Sono facilmente identificabili sia individualmente che come allevamento. Il ruolo epidemiologico dei cavalli, ospiti a fondo cieco come gli uomini, la facilità di cattura e di prelievo di questi animali, la disponibilità di test sierologici per questa specie, la possibilità di visite periodiche da parte di veterinari pubblici e privati, la possibilità di unire la sorveglianza della WND a quella delle altre encefaliti virali equine sono le principali ragioni per cui questa specie è quasi sempre coinvolta come specie sentinella nei sistemi di sorveglianza attuati.

3.2. sorveglianza passiva

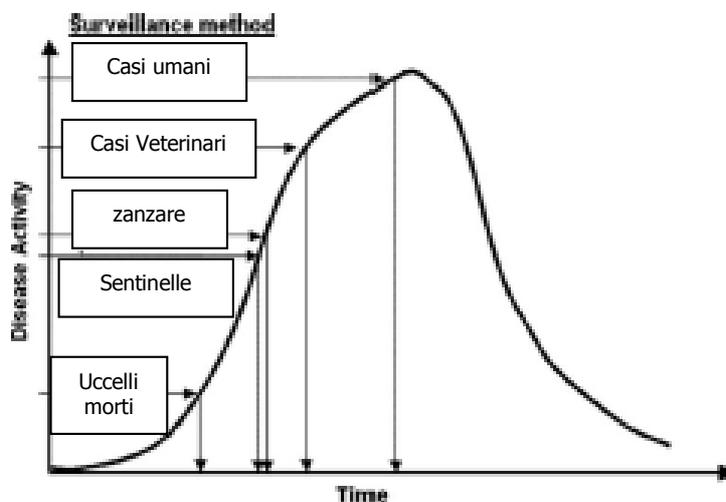
La combinazione di sospetto clinico e conferma attraverso prove di laboratorio permettono la corretta identificazione dei casi di encefalite da virus West Nile nei cavalli. E' però necessario che i casi di sintomatologia nervosa nei cavalli vengano notificati al veterinario, che a sua volta deve predisporre gli opportuni accertamenti diagnostici. Questo tipo di sorveglianza è stata attivata nella maggior parte dei Paesi europei. E' questo il sistema con il quale in genere viene rilevata l'introduzione del virus in un'area considerata indenne.

Bisogna però considerare che l'efficacia della sorveglianza passiva dipende molto anche dalla patogenicità del ceppo

virale, infatti, come già accennato, i casi clinici sono solo una piccola parte dei soggetti che sono venuti a contatto

con il virus WN.

Figura 2 – Sensibilità stimata dei metodi di sorveglianza sull'infezione da WN in Nord America (sito del CDC)



3.3. Sorveglianza attiva su ospiti sentinella

La presenza o l'assenza di circolazione di virus WN può essere monitorata attraverso il controllo periodico di una popolazione equina. In questo caso la sorveglianza permette la rilevazione delle sier conversionsi, e quindi della circolazione virale, anche in assenza di sintomatologia clinica.

Questo tipo di attività pare particolarmente indicata nelle aree dove si sono già avuti focolai o considerate a rischio per motivi climatici o caratteristiche territoriali (delta di fiumi, aree allagate, zone umide).

3.4. Sorveglianza sugli uccelli

Dato il loro ruolo nella introduzione, diffusione e mantenimento del virus WN nell'ambiente, gli uccelli sono sempre stati considerati fondamentali come sentinelle della presenza del patogeno in un'area geografica.

Vi sono diverse strategie per il loro utilizzo in un sistema di sorveglianza, le tipologie di animali considerati sono riassumibili in 4 categorie: uccelli selvatici rinvenuti morti; uccelli sentinella; uccelli selvatici catturati; pollame domestico.

3.5. Sorveglianza sulle zanzare

Il virus WN è stato isolato da un notevole numero di specie di zanzare appartenenti a diversi generi. Comunque la raccolta e l'esame delle zanzare non è un metodo pratico per la sorveglianza di routine dell'infezione. Questo perché anche in presenza di un'attiva diffusione virale, la percentuale dei pool di insetti positivi al virus rimane inferiore al 2%.

4. Prevenzione e controllo della WND

Un'efficace prevenzione dalle infezioni da virus West Nile dipende dalla sorveglianza sulla malattia e da programmi di controllo dei vettori, nonché da piani di educazione sanitaria (riduzione dei focolai riproduttivi dei vettori, misure protettive individuali per ridurre l'esposizione alle zanzare). Ad ogni modo misure di controllo delle popolazioni dei vettori attraverso il massiccio utilizzo di pesticidi non sono efficaci a causa della notevole varietà di specie di zanzare coinvolte nel ciclo di trasmissione.

Al momento sono allo studio alcuni vaccini per l'uomo, che però non sono ancora disponibili. Esiste invece un vaccino WN inattivato per i cavalli. Il prodotto è disponibile negli USA e garantisce il 94% di protezione contro la viremia dopo la somministrazione di due dosi di vaccino. L'immunità dura circa 12 mesi.

5. Il piano nazionale della WND

In seguito all'epidemia di WND dell'autunno 1998 e ai risultati delle indagini eseguite nell'area interessata negli anni successivi, il Ministero della Salute ha ritenuto opportuno attivare un piano di sorveglianza sull'infezione da WN su tutto il territorio nazionale. Un primo piano, per gli anni 2002-2003, è stato istituito con l'OM 4 aprile 2002. Successivamente il piano è stato nuovamente emanato, praticamente immutato, con l'OM 13 maggio 2004, che rimarrà in vigore fino al 30 giugno 2005. Al momento è allo studio del Ministero un Decreto per rendere tale attività permanente.

Il piano nazionale per la sorveglianza della WND ha i seguenti obiettivi:

- I. Individuare e monitorare alcune aree del territorio nazionale che per le loro caratteristiche ecologiche possono essere considerate idonee per la presenza e la propagazione dell'agente eziologico.
- II. Sperimentare un sistema di allerta rapido per rilevare e comunicare precocemente la presenza del virus nelle aree a rischio, al fine di fornire le indicazioni di intervento.
- III. Controllare l'efficacia dell'intero sistema attraverso il controllo sierologico della popolazione equina presente nelle aree a rischio individuate.

Per raggiungere tali obiettivi sono state individuate le seguenti attività da svolgere:

- I. Definizione e monitoraggio delle aree di intervento. Sono state individuate 15 aree a rischio sul territorio nazionale individuate in base al fatto che si tratta di aree umide nelle quali vi è un'elevata presenza di uccelli selvatici migratori (Fig. 3).
- II. Attivazione del sistema di allerta rapida, basato su:

- sorveglianza passiva sulle cause di mortalità degli uccelli selvatici;
- istituzione ed utilizzo di un sistema di sorveglianza entomologica;
- istituzione ed utilizzo di una rete di polli sentinella;
- istituzione di un sistema informativo telematico e di mailing list.

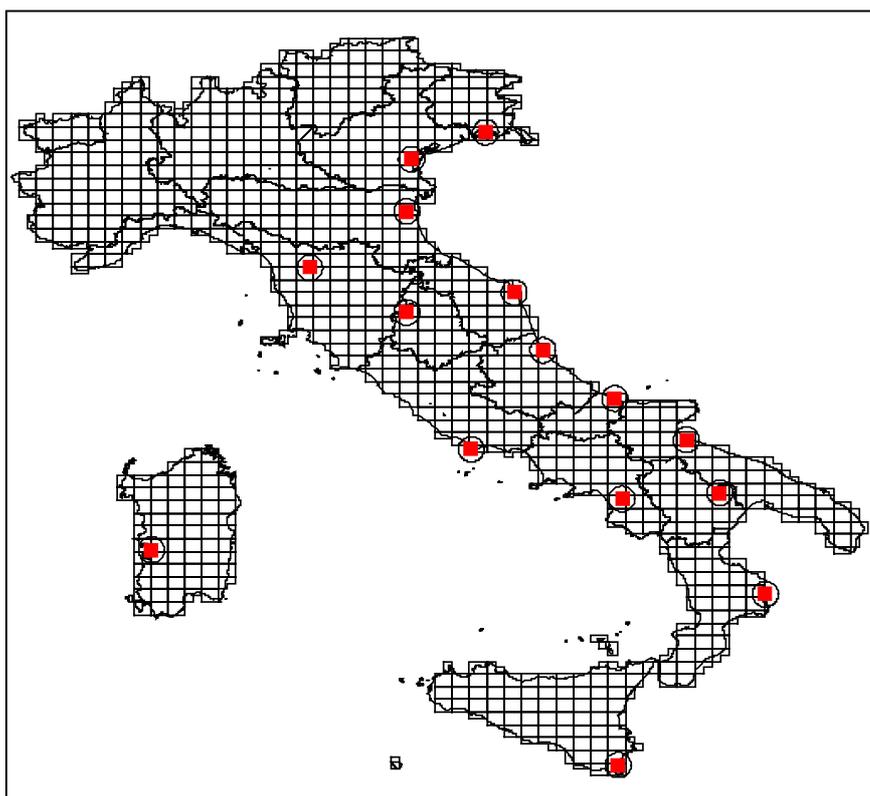
Valutazione dell'efficacia dell'intero sistema mediante monitoraggio dei cavalli, o su altre specie in assenza degli stessi. Attraverso due controlli a campione effettuati in primavera e autunno su cavalli "stanziali" si vuole verificare l'efficacia del sistema. La sorveglianza sierologica da effettuare è in grado di rilevare una prevalenza di infezione del 10% con limiti fiduciali del 95% (Tab. 3).

Tabella 3. Numero campioni da esaminare per WND nella popolazione equina nell'area in funzione della popolazione (OM 13/05/2004).

Popolazione Equina	N. Campioni da esaminare	Popolazione Equina	N. Campioni da esaminare
Fino a 10	Tutti	31-35	19
11	10	36-41	20
12	11	42-48	21
13-14	12	49-58	22
15-16	13	59-72	23
17-18	14	73-93	24
19-20	15	94-128	25
21-23	16	129-199	26
24-26	17	200-418	27
27-30	18	419 e oltre	28

Oltre a queste attività è stata disposta dalla Direzione Generale della Prevenzione del Ministero della Salute (nota 18/09/2002, prot. 400.3/3.2/4234) un'attività di sorveglianza passiva sui casi di meningite ed encefalite acuta virale nell'uomo. Tale sorveglianza può divenire attiva in seguito alla comunicazione di casi clinici veterinari.

Figura 3 – Aree di studio individuate in Italia (OM 13/05/2004).



6. Risultati del piano in Emilia-Romagna. Anno 2004

La Regione Emilia-Romagna è stata coinvolta fin dal 2002 nelle attività di sorveglianza della WND. Una delle 15 aree a rischio individuata e soggetta a sorveglianza è infatti rappresentata dalle Valli di Comacchio (FE). L'area interessata dal piano, 20 km intorno al punto con coordinate 44°37' N - 12°08' E, comprende diversi comuni delle province di Ferrara e Ravenna.

6.1. Sorveglianza sugli uccelli selvatici morti

E' già stato accennato dell'importanza della sorveglianza sulla fauna selvatica riscontrata morta e il piano nazionale,

sulla base della esperienza maturata in Nord America, ha dato particolare importanza ai corvidi (gazze, cornacchie, ghiandaie, taccole).

Purtroppo nelle aree umide, è particolarmente difficile riscontrare carcasse di animali deceduti. Durante tutto il 2004 è stato possibile esaminare solamente le carcasse di 10 cornacchie prelevate dal Servizio Veterinario della A.USL in provincia di Ferrara ed il sangue di 80 fenicotteri prelevato dall'Istituto Nazionale della Fauna Selvatica in provincia di Ravenna. Gli esami sierologici (ELISA) e virologici (PCR e isolamento) effettuati presso il CESME di

Teramo, Centro nazionale di referenza per le Malattie Esotiche, hanno dato esito costantemente negativo.

6.2. Polli sentinella

Presso l'oasi faunistica di Bando, nel comune di Argenta (FE), è stata disposta una stazione di polli sentinella. Gli animali, 20 galline, sono stati divisi in due gruppi di 10 capi ciascuno (A e B) che sono stati controllati alternativamente con cadenza quindicinale nel periodo maggio-settembre allo scopo di rilevare un'eventuale sieroconversione nei confronti del virus WN. Il pollo è stato scelto come uccello sentinella in quanto facile da maneggiare e perché è una specie che, se infettata, non presenta viremia a titolo tale da rappresentare un pericolo per gli operatori sanitari o il personale deputato al governo degli animali.

Come nel 2003, e in maniera più marcata, durante il 2004 i polli sentinella hanno mostrato una sieroconversione nei confronti del test di screening (ELISA), mentre sono risultati sempre negativi al test di conferma (SN). Al termine dei controlli il 45% degli animali era positivo in ELISA (Tab. 4). Tutti gli animali sono stati soppressi in concomitanza con l'ultimo controllo sierologico e sottoposti ad esame virologico (PCR e isolamento), con esito negativo.

In accordo con il CESME la positività è stata attribuita ad infezione con un *Flavivirus* diverso dal virus WN. L'ELISA utilizzata come screening, infatti, utilizza come antigene una proteina comune alla famiglia e non specifica per la WND.

6.3. Sorveglianza entomologica

In contemporanea con i prelievi di sangue nei polli sentinella sono state effettuate anche catture entomologiche. Di queste non si hanno ancora gli esiti, ma come confermato da indagini analoghe effettuate in Lazio e Veneto, è accertato che nelle zone umide italiane vi è abbondante presenza di zanzare del genere *Culex*, *Aedes* e *Ochlerotatus*, tutti potenziali vettori del virus WN.

Tabella 4. Esiti dei controlli sierologici per WND effettuati nei gruppi di polli sentinella nel 2004 in Emilia-Romagna.

data prelievo	Gruppo controllato	Sierologia		
		Esaminati	Pos. ELISA	Pos. SN
25/05/2004	A+B	20	0	0
10/06/2004	A	10	0	0
24/06/2004	B	10	0	0
07/07/2004	A	10	0	0
16/07/2004	B	10	0	0
05/08/2004	A	10	0	0
26/08/2004	B	10	1	0
09/09/2004	A	10	2	0
24/09/2004	A+B	20	9	0

6.4. Verifiche sierologiche sui cavalli

Come già accennato la sorveglianza sierologica sui cavalli ha lo scopo di valutare la sensibilità del sistema di sorveglianza attivato, più che di rilevare l'eventuale circolazione virale.

In Tabella 5 e 6 sono riassunti i dati dell'attività svolta in Emilia-Romagna nel periodo 2002-2004. I campioni esaminati sono prelevati dai Servizi Veterinari delle A.USL di Ravenna e Ferrara sulla base della Tabella 3. Come gli anni precedenti si sono registrate alcune positività al test di screening, non confermate dal test di conferma (Siero-Neutralizzazione). Nel 2002 come test di conferma è stata utilizzata anche la Fissazione del Complemento (FdC) e in quell'anno 3 cavalli avevano mostrato una sieropositività al titolo soglia (1:4). Tale test è stato abbandonato negli anni successivi perché non abbastanza specifico.

Anche per i cavalli, come per i polli, è quindi lecito pensare che le reazioni sierologiche riscontrate siano aspecifiche e non imputabili a infezione da virus WN.

Tabella 5. Esiti dei controlli sierologici per WND effettuati sui cavalli nel periodo 2002-2004 in Emilia-Romagna.

ANNO	Sorveglianza sierologica sui cavalli									
	Totale aziende esaminate	Totale cavalli esaminati	N° cavalli I Prelievo Primavera	N° cavalli II Prelievo Autunno	N° campioni ELISA Positivi		N° campioni FdC Positivi		N° campioni S.N. Positivi	
					I Prelievo	II Prelievo	I Prelievo	II Prelievo	I Prelievo	II Prelievo
2002	20	60	56	56	5	1	2	2	0	0
2003	19	60	56	51	0	0	0	0	0	0
2004	39	59	57	55	0	1	n.e.	n.e.	0	0

Tabella 6. Esiti dei controlli sierologici per WND effettuati sui cavalli nel 2004 in Emilia-Romagna, suddivisi per provincia.

Provincia	Sorveglianza sierologica sui cavalli							
	Totale Aziende esaminate	Totale cavalli esaminati	N° cavalli I Prelievo Primavera	N° cavalli II Prelievo Autunno	N° campioni ELISA Positivi		N° campioni S.N. Positivi	
					Prelievo Primavera	Prelievo Autunnale	Prelievo Primavera	Prelievo Autunnale
Ferrara	19	30	28	27	0	1	0	0
Ravenna	20	29	29	28	0	0	0	0
Totale	39	59	57	55	0	1	0	0

7. Conclusioni

Le attività di sorveglianza sulla WND effettuate in Emilia-Romagna non hanno rilevato la presenza del virus; tuttavia vi sono alcune perplessità sulle modalità di sorveglianza previste da piano nazionale.

Innanzitutto il carattere sporadico e imprevedibile della malattia suggerisce l'attivazione di un sistema di sorveglianza su tutto il territorio nazionale e non limitato ai soli 15 siti a rischio. Le caratteristiche della malattia, inoltre, suggeriscono l'adozione di attività di sorveglianza passiva (diagnosi differenziale sui casi di encefalite virale degli equini, virologia sugli uccelli trovati morti), piuttosto che di sorveglianza attiva (catture entomologiche, polli sentinella, monitoraggio sierologico nei cavalli), più costoso e dispersivo.

La sporadicità della malattia inoltre richiede che sia ai medici che ai veterinari (pubblici e liberi professionisti) sia data un'opportuna informazione sulle caratteristiche e sulle metodologie diagnostiche della malattia, in modo che eventuali casi clinici vengano più facilmente identificati. In particolare vale la pena sottolineare il fatto che i casi di sindromi neurologiche negli equini non sono esplicitamente dichiarati come denunciabili all'Autorità Sanitaria.

Ciononostante è probabile che, come per altre malattie trasmesse da vettori, i cambiamenti climatici ed ecologici di questi ultimi anni favoriranno nel prossimo futuro la diffusione e la frequenza dei focolai di WND. Anche se probabilmente in Europa la malattia non assumerà i caratteri di gravità registrati nel Nord America, è indubbio che la WND vada ormai annoverata tra i problemi emergenti di Sanità Pubblica.

Bibliografia consultata

1. Autorino G.L. (2002). West Nile virus epidemic in Horses, Tuscany Region, Italy. *Emerging Infectious Dis.* 8(12): 1372-1378.
2. AA.VV. (2004). Atti del Corso di Formazione: La West Nile Disease: un'antropozoonosi emergente. Set.2004-Gen.2005
3. Dauphin et al. (2004). West Nile: worldwide current situation in animals and humans. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.* 27:343-355.
4. Macchi C. (1999). Le encefaliti equine. *L'Osservatorio.* 2(1).



Il Bollettino CEREV è redatto e stampato dal Centro Emiliano Romagnolo di Epidemiologia Veterinaria.

Responsabile: Marco Tamba.

Indirizzo: Via Fiorini, 5 40127 Bologna.

Telefono 051-4200032. Fax 051-4200038

Mailto:cerev@bs.izs.it - <http://www.bs.izs.it/cerev/index.htm>