

MALATTIE DA VETTORE

Emergenza West Nile disease: l'esperienza veneta



©Shutterstock

STEFANO ADAMI¹, MAURIZIO FORONI², SIMONE MARTINI³

¹Direttore U.O.C. Igiene Urbana Animale, Az. ULSS9 Scaligera, Verona

²Responsabile U.O.S. Profilassi Malattie Infettive, Az. ULSS9 Scaligera, Verona

³Entostudio, Laboratorio Entomologico, Ponte S. Nicolò (PD)

Nonostante i notevoli progressi conseguiti nell'ambito della prevenzione, le malattie infettive continuano a rappresentare per la Regione del Veneto una priorità in ambito di sanità pubblica, in virtù della loro peculiare trasmissibilità, considerando anche che rappresentano attualmente la seconda causa di morte dopo le malattie cardiovascolari.

Il mutamento degli assetti sociali ed epidemiologici, il grande aumento dei viaggi internazionali in zone tropicali, possono contribuire alla riaccensione di patologie infettive ormai in via di eradicazione. A complicare ulteriormente lo scenario, negli ultimi anni si è avuta la comparsa di patologie fino a

quel momento sconosciute o normalmente non presenti sul territorio, talvolta con caratteristiche tali da rappresentare un rilevante rischio per la salute dell'uomo e degli animali.

Tra queste malattie, denominate "emergenti", viene annoverata la West Nile disease, rilevata per la prima volta in Veneto nel 2008 e per questo definita "arboviroosi autoctona". A dieci anni di distanza, il 2018, che oramai sta volgendo al termine, è considerato a ragion veduta *annus horribilis* a causa dell'elevata presenza di vettori in grado di trasmettere tale malattia agli uomini e agli animali e a motivo della persistente circolazione del virus sul territorio regionale.

Il virus West Nile

Com'è noto, tale patologia è sostenuta dal virus West Nile (WNV), che conosciamo oramai endemico nel nostro territorio veneto: il virus WNV è trasmesso, sia agli animali sia all'uomo, tramite la puntura di zanzare infette, principalmente del genere *Culex* (*C. pipiens* o zanzara comune). Il ciclo biologico coinvolge gli uccelli selvatici che costituiscono il serbatoio d'infezione, mentre i mammiferi infettati (cavalli e uomini) si comportano come ospiti accidentali a fondo cieco, in quanto la viremia non presenta un titolo tale da poter infettare nuovamente un vettore competente. Il virus non si trasmette da persona a persona, né da cavallo a persona. È invece documentata la trasmissione interumana mediante trasfusione sangue/emocomponenti o trapianto di organi o tessuti. Può colpire diverse specie di vertebrati e, tra i mammiferi, l'uomo e il cavallo possono mostrare sintomatologia clinica. La diagnosi della malattia viene effettuata attraverso test di laboratorio (ELISA o altri) condotti sul siero e, dove indicato, su liquor cerebrospinale.

La percentuale delle persone che pur essendo infette non manifesta alcuna sintomatologia è molto alta (80%): le residue forme sintomatiche si manifestano per lo più con sintomi simil influenzali: lievi febbri, cefalea, dolori muscolo articolari, raramente accompagnati da rash cutaneo (febbre, WNF). Diversamente, meno dell'1% sviluppa una malattia neuroinvasiva, con meningite, encefalite o paralisi flaccida (malattia neuro-invasiva, WNND). Il rischio di malattia neuroinvasiva aumenta con l'età ed è più elevato fra gli adulti di oltre 60 anni. Anche i decessi rappresentano un fenomeno molto raro, legato fondamentalmente all'età avanzata, alla presenza di pluri-patologie pregresse e a situazioni di immuno-compromissione.

Il mondo scientifico si interroga

A livello scientifico ci si è chiesti cosa il 2018 abbia rappresentato di diverso rispetto agli scorsi anni, così da rendere manifesto un così elevato numero di positività al WNV. Si è escluso che si potesse trattare di una particolare situazione riferita alla Regione Veneto, perché in maniera simile sono state interessate tutte le Regioni del Nord Italia. Così come, alla domanda se il WNV potesse aver subito mutazioni, la risposta è stata negativa, in quanto è stato appurato che il WNV circolante appartiene sempre alla già conosciuta Linea 2. Un'ipotesi presa in considerazione è stata quella di una riduzione dell'immunità dei volatili reservoir (uccelli selvatici) sulla quale, tuttavia, i pareri non sono ancora tutti unanimi: ma, l'aspetto che ha caratterizzato l'anno 2018 e sul quale sembrano convergere tutte le attenzioni è stato il fattore clima, con un'estate anticipata e un'alternanza di elevate temperature e di umidità/piovosità.

Tabella 1. Regione Veneto: data in cui si è rilevata la prima positività in pool di zanzare al WNV dal 2010 al 2018 [Fonte: Laboratorio di Parassitologia ed Ecopatologia, IZS Venezie, 2018].

Anno	Prima positività WNV
2010	27 luglio
2011	27 luglio
2012	1° agosto
2013	4 luglio
2014	9 luglio
2015	6 agosto
2016	19 luglio
2017	11 luglio
2018	7 giugno

Come, infatti, si può vedere nella tabella 1, la prima positività in pool delle zanzare, nel 2018 nella Regione Veneto, è stata in alcuni casi addirittura anticipata di due mesi rispetto agli anni precedenti, a segnalare una circolazione virale molto precoce rispetto agli anni precedenti.

Non di meno le caratteristiche di questa estate si sono prolungate oltre l'equinozio di settembre che chiude l'estate astronomica, prolungandosi con giornate calde e soleggiate e determinando nuove positività umane anche in autunno avanzato.

L'organizzazione della Regione Veneto

La Regione Veneto non si è fatta trovare impreparata di fronte a questo precoce esordio della malattia sul proprio territorio, avendo da anni adottato un consolidato piano di intervento che poggia su una sorveglianza integrata "a tre gambe":

- sorveglianza clinica;
- sorveglianza entomologica;
- sorveglianza veterinaria.

Cui si affiancano:

- il Coordinamento regionale attività trasfusionali;
- il Coordinamento regionale per i trapianti di organi e tessuti per la sorveglianza dei donatori.

La sorveglianza clinica

È rappresentata dalla rete costituita da: medici di Medicina generale, Pronto soccorso degli ospedali, Unità operative di Mattie infettive/tropicali di riferimento, Centri di prelievo abilitati, Servizi di Igiene e Sanità pubblica delle Az. ULSS. L'attenzione posta da questi "attori" verso la malattia West Nile permette l'individuazione di tre definizioni di "caso autotono":

1°. Caso possibile:

- febbre (≥ 38 °C) di recente insorgenza (≤ 7 giorni);
- assenza di meningoencefalite o altri sintomi e segni di malattia neuroinvasiva (N.B. in presenza di tali segni e/o di meningoencefalite a liquor limpido andrà immediatamente attivato quanto previsto dalla Circolare ministeriale in vigore);
- assenza di causa evidente dello stato febbrile (come infezione vie urinarie, infezione vie respiratorie, faringotonsillite);
- assenza di leucocitosi (GB totali $<10.000/\mu\text{l}$).

2°. Caso probabile:

- presenza nel siero di anticorpi IgM anti-WNV (test EIA o IFA).

3°. Caso confermato:

- positività a uno o più dei seguenti test di conferma:
- isolamento del WNV nel siero o in altri materiali biologici;
- rilevazione di WNV RNA nel sangue, nelle urine e/o o in altri materiali biologici.
- titolo elevato di IgM anti-WNV e identificazione di IgG anti-WNV nel siero e conferma mediante test di neutralizzazione.

La sorveglianza entomologica

Il monitoraggio entomologico permette di raccogliere informazioni molto utili relative sia al vettore sia all'epidemiologia della malattia.

Gli obiettivi sono:

- determinare quali specie di vettori, nel caso specifico zanzare, sono presenti nel territorio;
- determinare la densità del vettore;
- rilevare precocemente la circolazione virale o altri patogeni trasmessi nelle zanzare;
- mappare la distribuzione sul territorio del virus;
- rilevare l'introduzione di un nuovo patogeno;
- rilevare l'introduzione di una nuova specie di vettore.

I dati raccolti possono poi essere confrontati con altri sistemi di monitoraggio relativi, per esempio, alla circolazione del virus negli animali ospiti, l'infezione nei cavalli e l'emergenza dei casi nell'uomo. In questo modo è possibile avere una visione più chiara sulla circolazione del virus in un determinato ambito territoriale che permetta di determinare un sistema predittivo per l'individuazione delle aree più a rischio d'infezione nell'uomo.

La sorveglianza nel Nord-Est

Il Nord-Est si conferma una delle aree con maggior variabilità di specie d'Italia considerando che sono state identificate 18 specie differenti di zanzare e che su tutto il territorio nazionale risultano presenti in totale 65 specie (Severini *et al.* 2009, più *Ae. Koreicus* e *Ae. Japonicus* segnalata in Provincia di Udine, nel 2015). Tuttavia, nonostante la varietà di specie, più del 90% degli esemplari appartengono solo a tre specie: *Culex pipiens*, *Ochlerotatus caspius* e *Aedes vexans*. Tra queste comunque, *Cx. pipiens*, il principale vet-

tore della West Nile in Europa, è risultata essere la zanzara più comune rappresentando in media l'85% del numero degli insetti catturati. In generale, esistono delle aree dove la densità del vettore è mediamente più elevata. Tra le Province venete quelle con il maggior numero di zanzare sono Rovigo, Venezia e Verona. Per quanto riguarda la dinamica stagionale, si possono osservare dei picchi di densità nel corso dell'anno specifici per ciascuna specie e che variano in relazione al luogo e all'anno, per via delle variazioni climatiche. Generalizzando, si può dire che *Cx. pipiens* presenta un picco verso fine giugno-primi di luglio.

La sorveglianza del vettore del WNV vede in prima linea l'Istituto Zooprofilattico delle Venezie e si basa principalmente su un sistema di trappole specifiche per la cattura delle zanzare, in particolare di *Cx. pipiens*. La scelta dei siti da monitorare viene impostata prendendo in considerazione parametri ambientali, ecologici ed epidemiologici. Le trappole devono quindi essere collocate in siti che hanno le seguenti caratteristiche:

- aree con elevata presenza di raccolte d'acqua stagnante favorevoli allo sviluppo delle zanzare, come: lagune, stagni, aree irrigue, risaie etc.;
- aree con elevata presenza di uccelli e in particolare uccelli migratori che frequentano aree umide, come anatidi, limicoli, ardeidi, ma anche passeriformi e columbiformi;
- aree con presenza di allevamenti di equidi dove è stata precedentemente riscontrata la circolazione virale;
- aree a biotopo diverso per confronto.

La cattura di *Culex pipiens*

Le trappole per la cattura di *Cx. pipiens* usano come attrattivo anidride carbonica: possono essere utilizzate trappole del tipo "CDC-CO₂" o "BG-Sentinel con CO₂". Consistono in un contenitore forato contenente ghiaccio secco che, sublimando, emette anidride carbonica come fonte attrattiva per le zanzare. Sotto il contenitore è presente una ventola, alimentata da una batteria, che aspira gli insetti e li convoglia in un sacchetto o altro contenitore di raccolta sottostante. Le trappole devono essere attivate al tramonto e restano attive tra le ore 17,00 e le ore 8,00 del giorno seguente. Le frequenze di campionamento sono solitamente ogni 7-15 giorni. Le zanzare catturate devono essere trasportate a +4 °C in un frigo portatile al laboratorio di riferimento, nel più breve tempo possibile. Dopo la loro identificazione, le zanzare vengono raggruppate in pool contenenti massimo 50-100 esemplari della stessa specie e mantenute a -80°C per la successiva ricerca dei virus.

Come evidenziato nella tabella 2, al 30 agosto 2018 il 69% delle trappole posizionate in Regione Veneto erano risultate positive, rilevando 159 pool di zanzare con WNV (il triplo rispetto all'anno 2013).

La sorveglianza veterinaria

Nell'ambito della sorveglianza integrata l'attenzione verso le specie animali sensibili al WNV riveste un'importanza particolare

Tabella 2. Dati rilevanti la cattura delle zanzare nella Regione Veneto e il pool di quelle con WNV

[Fonte: IZS Venezia, 2018].

Anno	Totale numero zanzare West Nile Virus		Siti di cattura	Media zanzare/sito
2010	137.848	43	3.205	10
2011	79.415	49	1.620	2
2012	104.930	24	4.372	11
2013	304.761	47	6.484	57
2014	85.813	29	2.959	7
2015	196.233	49	2.168	2
2016	206.862	50	4.137	27
2017	129.577	54	2.399	22
2018	119.188	55	2.167	159



perché permette di individuare con precisione le aree geografiche dove intensificare la lotta entomologica e gli interventi di disinfestazione, anticipando la possibile trasmissione all'uomo.

La sorveglianza veterinaria si realizza principalmente nella:

- sorveglianza su uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio. È possibile, in alternativa, attuare la sorveglianza su allevamenti avicoli rurali o all'aperto o tramite l'allevamento di gruppi di polli/galline sentinella;
- sorveglianza clinica e sierologica negli equidi;
- sorveglianza su carcasse di uccelli selvatici.

1. Sorveglianza avifauna selvatica

Un progetto di ricerca condotto dall'Istituto zooprofilattico sperimentale delle Venezie (RC IZSVE 10/12) ha studiato il modo di intensificare la sorveglianza del virus West Nile attraverso la conoscenza delle abitudini alimentari della zanzara in relazione alla fauna selvatica, in particolar modo agli uccelli. In Veneto, infatti, non era chiaro quale fosse la specie volatile preferita dalla zanzara, da monitorare come riferimento per la sorveglianza della malattia.

Lo studio ha valutato:

- la preferenza alimentare delle zanzare comuni in 85 siti campione;
- l'abbondanza degli uccelli in 10 siti campione, caratterizzati sia da presenza sia da assenza di circolazione del virus.

Su quasi 1.400 zanzare catturate della specie *Culex pipiens*, 742 sono state sottoposte ad analisi molecolare (metodo PCR) e sono state ottenute 568 sequenze con identificazione dell'ospite su cui la zanzara aveva compiuto l'ultimo pasto di sangue. Delle 56 specie diverse riscontrate il 78% erano volatili, mentre il rimanente era composto da mammiferi domestici, roditori, insettivori e rettili. Il risultato più importante è stata l'identificazione delle specie di volatili preferite dalla zanzara comune: il merlo e la gazza sono in cima alla classifica, seguite dalla tortora dal collare e dal passero. La tortora risulta meno preferita, mentre il passero è scelto in

Tabella 3. West Nile Disease, Regione Veneto, Report attività: equidi testati nel mese di agosto 2018

[Fonte: IZS Venezia, 2018].

Azienda ULSS Regione Veneto	Equidi testati in azienda	Equidi testati al macello	Totale
Marca	83	5	88
Serenissima	60	38	98
Veneto orientale	11	0	11
Polesana	37	13	50
Euganea	131	43	174
Pedemontana	41	7	48
Berica	19	1	20
Scaligera	102	24	126
Totale	484	131	615



Ristagno d'acqua dove sono evidenti le larve di zanzara.

modo opportunistico: tuttavia anche questi uccelli possono essere inseriti nell'attività di sorveglianza, in qualità di seconde scelte. Anche il pollo domestico va tenuto in considerazione, confermando la bontà della scelta degli allevamenti aviari come sentinelle per la circolazione di WNV. Piccione e storno sono invece risultati del tutto ignorati.

2. Sorveglianza clinica e sierologica degli equidi

Nell'ambito del Piano di sorveglianza 2018 Regione Veneto, trasmesso con Nota regionale prot. 224016 del 13 giugno 2018, ai sensi del Piano nazionale di sorveglianza per la West Nile Disease (WNV), di cui al D.M. 27/11/2007 e O.M. 4/08/11 (prorogata dall'O.M. 11/12/2015), è prevista l'attività di raccolta di sieri di sangue con cadenza mensile,

da allevamenti localizzati nell'area di sorveglianza, su un totale di 145 allevamenti. In ciascun allevamento devono essere campionati 5 capi oppure, nel caso siano presenti meno di 5 capi, i prelievi devono essere effettuati su tutti gli equidi. Sono sottoposti a controllo per la ricerca di anticorpi IgM:

- sieri di equidi prelevati nell'ambito del piano di controllo per Anemia infettiva (AI) equina (nel caso in cui non si ottenesse la numerosità prevista con i soli prelievi per l'AI, sarà necessario effettuare ulteriori prelievi);
- animali scelti casualmente tra quelli che hanno soggiornato almeno negli ultimi 3 mesi sul territorio dell'area oggetto del Piano purché non vaccinati;
- sieri prelevati da animali stanziali macellati, provenienti da aziende situate nell'area di sorveglianza;



La prevenzione passa anche attraverso la necessità di eliminare i ristagni d'acqua nei propri siti abitativi.

Infine, sono notificati e sottoposti a indagini tutti gli equidi con sintomatologia nervosa (sorveglianza passiva sui casi clinici). Nel corso delle attività di sorveglianza sugli equidi, effettuate nel mese di agosto, sono state identificate positività sierologiche in prima istanza presso l'IZS Venezia in 51 aziende, localizzate nelle Province di Venezia (8), Rovigo (7), Padova (17), Treviso (7), Verona (11) e Vicenza (1) (tabella 3).

Le strategie di lotta territoriale

In attesa di poter disporre anche per l'uomo, così come per gli equidi, di un vaccino contro il WNV, risulta evidente che la strategia orientata a ridurre la presenza di vettori in un dato territorio diventa elemento essenziale e vincente nella lotta contro questa malattia infettiva. Nel piano strategico di lotta contro la zanzara comune gli attori che rivestono indistintamente il ruolo di protagonisti sono le Amministrazioni comunali, i Dipartimenti di prevenzione delle Az. ULSS e i cittadini.

Le amministrazioni comunali

La DGR Veneto n. 2206 del 06.11.2012 (parziale modifica della DGR.Veneto n. 324 del 14.02.2006) obbliga tutti i Comuni (senza distinzione di localizzazione geografica) a presentare, entro il mese di febbraio di ogni anno, un piano ordinario di disinfestazione, che preveda entro il mese di aprile l'iniziale attuazione di interventi di disinfestazione larvicida, nelle aree di maggior sviluppo delle larve (fossati ad acqua stagnante, caditoie, tombini etc.), a cura di ditte specializzate dalle stesse amministrazioni comunali incaricate. La stesura di un piano siffatto non può prescindere da una conoscenza puntuale e accurata del proprio territorio da parte dei Comuni, così da poter pianificare interventi mirati nelle zone del territorio a maggior rischio di infestazione larvale, attraverso una mappatura delle stesse. All'interno del piano ordinario le amministrazioni comunali debbono prevedere anche degli eventuali interventi straordinari in caso di positività entomologica, animale e/o umana sul proprio territorio.

In considerazione dell'elevato numero di casi umani di West Nile disease, sul territorio regionale nel corso del corrente anno 2018, la Regione Veneto, con propria DGR Veneto (DGR Veneto 1345 del 18/9/2018) ha previsto un piano straordinario di disinfestazione in tutti i comuni del Veneto – classificati in classe 1 (presenza di 2 o più casi di infezione umana) e in classe 2 (presenza di un caso di infezione umana) – che includa sia interventi larvicidi sia adulticidi, da concludersi nel periodo di tempo massimo di due settimane. I costi di questi interventi straordinari vengono sostenuti per intero dalla stessa Regione Veneto, sulla base di rendicontazioni che i Comuni medesimi presentano alle Az. ULSS del territorio.

I Dipartimenti di prevenzione delle Az. ULSS

Ai dipartimenti di prevenzione delle Az. ULSS, la DGR Veneto n. 2206/2012 affida il compito di verifica dell'efficacia

dei trattamenti posti in essere dai Comuni e la loro appropriatezza. Tale azione di controllo può essere effettuata con personale tecnico-specialistico interno alle Az. ULSS oppure per il tramite di interventi di consulenza. Gli esiti di questi interventi di controllo vengono inseriti in report che le stesse Az. ULSS inviano periodicamente ai Comuni, evidenziando eventuali criticità e suggerendo correzioni al piano realizzato. Risulta imprescindibile, all'interno del Dipartimento di Prevenzione, la collaborazione proficua e intensa fra il Servizio veterinario di Igiene urbana animale e il Servizio Igiene e Sanità pubblica (SISP), che unitamente al Direttore del Dipartimento di prevenzione e ai rappresentanti dei singoli Comuni, vanno a comporre quel "Tavolo tecnico di coordinamento", richiesto dalla Regione Veneto, strumento organizzativo-strategico di fondamentale importanza nella lotta contro la diffusione della West Nile disease. A questo tavolo ognuna porta competenza e professionalità: il SISP aggiorna periodicamente sui casi umani, le indagini epidemiologiche che ne seguono e che aiutano a individuare al meglio le aree territoriali da sottoporre a trattamento; il Servizio Igiene urbana animale raccoglie gli esiti dei report con le verifiche di efficacia effettuate sui Comuni, suggerisce e prevede adeguati interventi di miglioramento.

I singoli cittadini

Ogni intervento d'autorità avrebbe vita breve senza il coinvolgimento, la formazione e l'educazione dei singoli cittadini. L'opera più laboriosa e impegnativa appare proprio quella del coinvolgimento della popolazione di un dato territorio, attraverso interventi di formazione/informazione sulla necessità di eliminare i ristagni d'acqua nei propri siti abitativi, sull'appropriato uso di antilarvali nelle proprie residenze, sul dotare le abitazioni di zanzariere, sulla necessità di accorgimenti individuali (uscire la sera con indumenti chiari, maniche e pantaloni lunghi, idoneo uso di repellenti etc.).

L'attenzione e la preoccupazione mostrata dalla popolazione in questi ultimi mesi è stata elevata, così come sono stati molto affollati gli incontri promossi dalle Amministrazioni comunali con la popolazione, ai quali i tecnici delle Az. ULSS sono stati più volte invitati a portare il loro bagaglio di conoscenze.

Per l'identificazione tempestiva della circolazione virale utile alla definizione delle aree affette e alle conseguenti attività di sorveglianza, è essenziale che tutti gli esiti riscontrati nell'ambito della sorveglianza veterinaria, entomologica e umana siano condivisi attraverso una piattaforma comune. A tal proposito il Bollettino Sorveglianza delle Arbovirosi che periodicamente la Regione Veneto pubblica, unitamente al Bollettino periodico dell'IZSAM e ISS rappresentano un sussidio estremamente utile di informazione e comunicazione fra operatori, così pure i siti web di Regione Veneto e di IZS Venezia, accessibili attraverso i siti aziendali ULSS dove addetti ai lavori, ma anche semplici cittadini, possono trovare corretti e adeguati aggiornamenti, scevri dai rischi allarmistici di cronaca.