



REGIONE DEL VENETO



RELAZIONE SULLE MALATTIE TRASMESSE DA VETTORI
ANNO 2012
E
PIANO DI SORVEGLIANZA ENTOMOLOGICA E
MISURE DI LOTTA AI VETTORI
ANNO 2013



DIREZIONE PREVENZIONE— SERVIZIO PROMOZIONE E SVILUPPO IGIENE E SANITA' PUBBLICA



Redazione e impaginazione a cura di:

Francesca Russo¹, Francesca Zanella¹, Francesca Pozza¹
(¹Regione Veneto - Direzione Prevenzione)

Il Sistema di sorveglianza delle malattie emergenti è inserito nel Piano Regionale Prevenzione.
Dr.ssa Giovanna Frison

Gruppo di lavoro:

Gioia Capelli, Fabrizio Montarsi - Istituto Zooprofilattico delle Venezie – Laboratorio di Parassitologia
Simone Martini – Entostudio

Zeno Bisoffi - Centro per le Malattie Tropicali - Ospedale Sacrocuore Don Calabria - Negrar

Lebana Bonfanti - Istituto Zooprofilattico delle Venezie - Staff Direzione Sanitaria

Luisa Barzon - Dipartimento di Medicina Molecolare - U.O.C. Microbiologia e Virologia Az. Ospedaliera di Padova

Antonio Breda - CRAT Coordinamento Regionale per le Attività Trasfusionali

Stampa: Centro Stampa Giunta - Regione del Veneto, Venezia, marzo 2013

Copia del volume può essere richiesta a:

Direzione Prevenzione

Servizio Promozione e Sviluppo Igiene e Sanità Pubblica

Dorsoduro 3493 - 30123

Tel. 0412791352

E-mail: sanitapubblica.screening@regione.veneto.it

Oppure può essere scaricata dal sito Internet della Regione Veneto all'indirizzo:

<http://www.regione.veneto.it/Servizi+alla+Persona/Sanita/Prevenzione/Malattie+Infettive/>

Si ringraziano per la collaborazione i referenti della sorveglianza delle febbri estive delle U.O. di Malattie Infettive, e dei Laboratori di Microbiologia e i Servizi di Igiene e Sanità Pubblica delle Aziende Ulss.

INTRODUZIONE

Negli ultimi anni fattori correlati a cambiamenti climatici ed alla globalizzazione, che hanno portato all'aumento dei viaggi a scopo turistico, professionale o di scambi commerciali verso molte zone del mondo hanno causato l'importazione e la riproduzione nel territorio di nuove specie di vettori provenienti da altri Paesi (tra cui *Aedes Albopictus* e *Aedes Koreicus*). Parallelamente si sta verificando anche un ampliamento dell'area di distribuzione di artropodi indigeni (in particolare flebotomi, zecche e zanzare), vettori di malattie endemiche nel nostro Paese.

In Italia e in Europa si è assistito nell'ultimo decennio all'aumento della segnalazione di casi importati ed autoctoni di alcune *Arbovirosi* molto diffuse nel mondo tra cui la Dengue, la febbre Chikungunya e la malattia da virus West-Nile.

A partire dall'estate dell'anno 2007 si sono verificati per la prima volta in Italia, e in particolare nella Regione Emilia-Romagna, casi autoctoni di malattie infettive tipiche di un Paese con un clima tropicale (197 casi di chikungunya). Nel corso del 2008 su un vasto territorio del Nord-Est (province di Bologna, Ferrara, Mantova, Modena, Ravenna, Rovigo, Padova e Venezia) sono stati identificati casi di malattia neuroinvasiva da *West-Nile virus* (WNNV) in animali e sono stati segnalati i primi casi umani in Emilia-Romagna e Veneto.

Il presente rapporto prende in considerazione le tre malattie (chikungunya, dengue e West-Nile) per le quali si è vista una tendenza al graduale aumento dei casi di infezione in questi ultimi anni.

La **chikungunya** è una malattia febbrile acuta virale, trasmessa dalle punture di zanzare del genere *Aedes*. Nel nostro Paese il vettore di potenziale diffusione della malattia è *Aedes albopictus* (zanzara tigre).

Il virus responsabile della malattia è il *Chikungunya virus* (CHIKV), appartenente alla famiglia delle *Togaviridae*, del genere *Alphavirus*.

Il periodo di incubazione del virus responsabile della malattia è breve, solitamente di 3-7 giorni, raramente di più, e si manifesta con sintomi simil-influenzali quali: febbre, cefalea, nausea, vomito e soprattutto artralgie importanti. La persona infetta può inoltre manifestare un esantema maculopapulare pruriginoso su tutto il corpo. Le complicanze più gravi sono rare e possono essere di natura emorragica o neurologica.

La diagnosi della malattia è sierologica, con il test ELISA o altre metodiche, tra cui test rapidi. La conferma si basa su PCR, isolamento virale e/o aumento del titolo anticorpale. La terapia è sintomatica e si basa sul controllo delle artralgie. La mortalità della chikungunya è bassa, ma risulta maggiore nei bambini al di sotto dell'anno d'età e negli anziani già affetti da altre patologie.

La febbre **dengue** è una malattia infettiva tropicale causata dal *Dengue virus*. La malattia si trasmette tramite le zanzare del genere *Aedes*, in particolar modo la specie *Aedes aegypti non presente e Aedes Albopictus*. Esistono poi quattro differenti sierotipi di virus.

La malattia ha un'incubazione di 3-7 giorni e si manifesta con febbre, cefalea, dolore muscolare e articolare, nausea e vomito, oltre al caratteristico rash cutaneo sulla maggior parte del corpo dopo 3-4 giorni dall'insorgenza della febbre. In una piccola percentuale di casi, in generale in soggetti che avevano contratto in precedenza l'infezione con un diverso tipo virale, si sviluppa una febbre emorragica con trombocitopenia, emorragie e perdita di liquidi, che può evolvere in uno shock circolatorio e portare alla morte.

La diagnosi dei casi di dengue è solitamente clinica durante un'epidemia, basata sui sintomi riferiti e sull'esame obiettivo; la diagnosi di laboratorio è simile a quella della chikungunya.

La malattia del Nilo Occidentale, in inglese **West-Nile Disease** (WND), è una malattia infettiva ad eziologia virale trasmessa da un *Flavivirus*, veicolato da puntura di zanzara principalmente del genere *Culex*.

Il virus West-Nile (WNV) è trasmesso, sia agli animali che all'uomo, tramite la puntura di zanzare infette. 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 trasmis-

sione 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) effettuati sul siero e, dove indicato, su liquor cerebrospinale. La conferma si basa sulle stesse metodiche accennate sopra per dengue e chikungunya. Non esiste una terapia specifica per la febbre West-Nile; nella maggior parte dei casi i sintomi scompaiono da soli. Nei casi più gravi è invece necessario il ricovero in ospedale.



LA SORVEGLIANZA VETERINARIA PER WEST-NILE NELLA REGIONE VENETO

A partire dal 2008, sul territorio della Regione Veneto, sono stati attuati piani annuali di sorveglianza della WND tutti finalizzati all'identificazione precoce di re-introduzione o mantenimento del virus nelle popolazioni sensibili, in particolare equidi e uccelli selvatici stanziali, oltre all'attività di controllo dei vettori (zanzare).

Il piano regionale WND è stato attuato su tutto il territorio regionale con l'esclusione della provincia di Belluno (Figura1).

- Area di Circolazione Virale (ACV): territori dei comuni interessati da positività negli anni precedenti
- Area di Sorveglianza Esterna (AS): fascia di 20 km intorno all'ACV.

Figura 1



L'obiettivo del piano regionale è garantire l'individuazione in tempi rapidi (early detection) di possibili nuove introduzioni della malattia nell'area geografica indenne (AS) e verificare la reintroduzione nell'area infetta (ACV) al fine di tutelare la salute degli animali e attuare misure di protezione per la popolazione umana.

Nel 2011 e nel 2012, in considerazione della situazione epidemiologica venutasi a verificare nel corso degli ultimi anni, in Regione Veneto è stato definito e attivato un piano straordinario di sorveglianza della WND tramite un controllo sierologico su equidi stanziali sottoposti a prelievo nell'ambito di altri piani di controllo (es: Anemia Infettiva e Morbo Coitale Maligno). I test utilizzati hanno consentito di rilevare la presenza di immunoglobuline di classe M (IgM) che vengono prodotte da una settimana a un massimo di tre mesi dall'infezione, in grado quindi di individuare i casi recenti e autoctoni di malattia.

A partire dal mese di luglio 2012 fino a novembre sono stati sottoposti al test 2.143 sieri di equidi presenti in 674 allevamenti:

- 10 allevamenti sono risultati positivi
- 5 di questi con cavalli sintomatici
- 33 cavalli positivi alle IgM
- 1 cavallo sintomatico è risultato positivo alla PCR

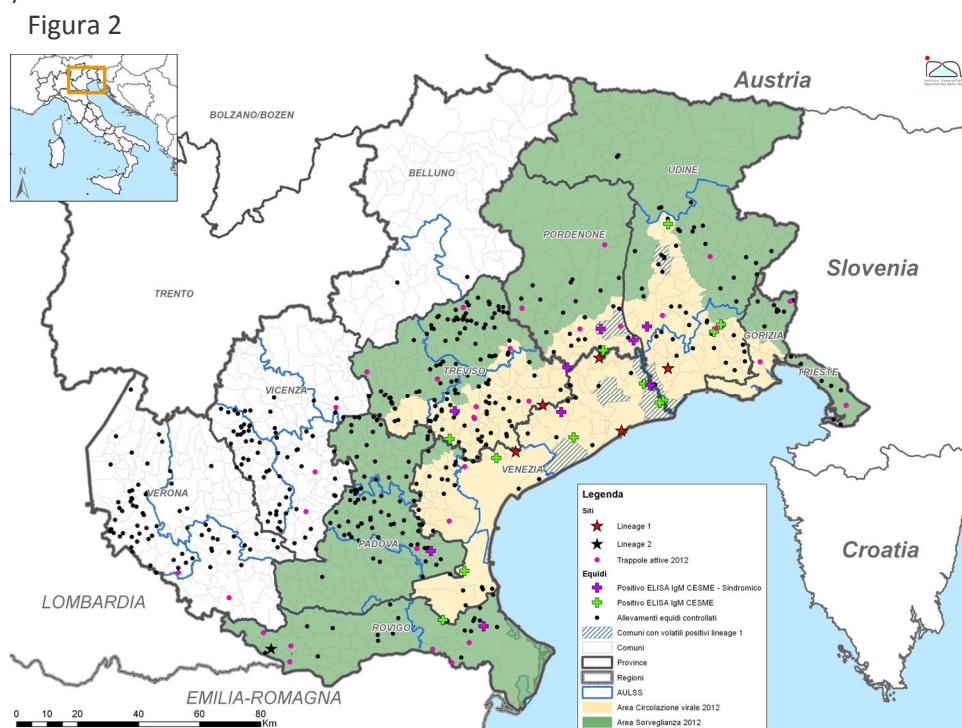
Sorveglianza sui volatili selvatici

Nel corso del 2012 la sorveglianza passiva sui volatili selvatici ha consentito di individuare :

- una positività alla PCR per WND su organi di 1 cornacchia grigia (*Corvus corone cornix*), in Provincia di Venezia
- 1 esemplare di Gazza (**Pica Pica**) in provincia di Venezia, 8 esemplari nella Regione Friuli Venezia Giulia, 5 in Provincia di Udine e 3 in Provincia di Pordenone .
- positività alla PCR per WND su organi di 2 esemplari di allodola (**Alauda arvensis**) in Provincia di Venezia
- 1 esemplare di oca collarosso (**Branta ruficollis**) in Provincia di Udine.

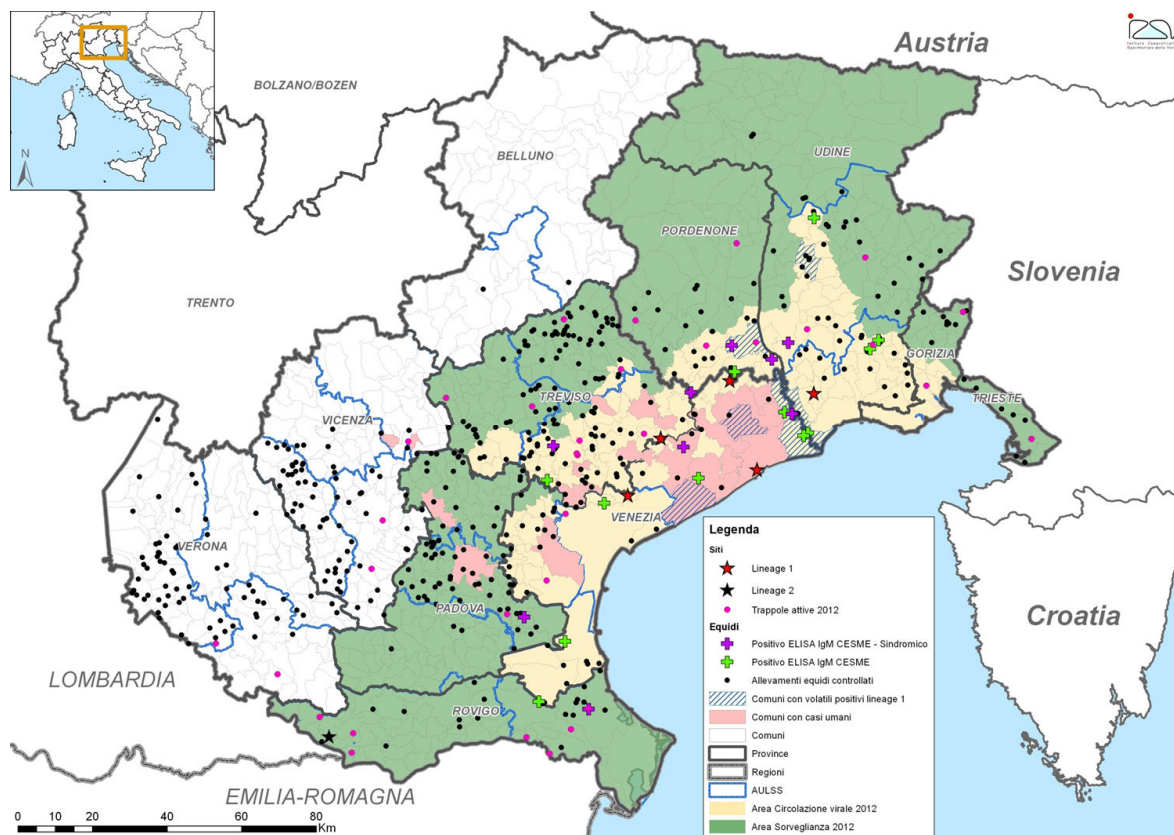
Tutte le positività erano sostenute da stipiti del lineage 1.

Nella figura 2 sono riportate tutte le positività confermate nel corso del 2012 (equidi, volatili selvatici e vettori).



In Figura 3 sono riportate anche le positività confermate nella popolazione umana nel 2012 (comune interessato dal caso).

Figura 3



Considerazioni finali

Il piano straordinario attuato nella Regione Veneto con l'utilizzo del test IgM, ha consentito di individuare precocemente le infezioni recenti e autoctone. Inoltre l'utilizzo di campioni prelevati nell'ambito di altri piani di controllo (MCM e AIE) ha consentito un utilizzo adeguato delle risorse regionali.

L'attività di controllo ha permesso di ridefinire l'area soggetta a nuove introduzioni virali (definizione della nuova ACV) fornendo così essenziali informazioni epidemiologiche al settore della prevenzione umana.

Il nuovo piano di attività dovrà essere ridefinito tenendo conto delle tempistiche relative alle positività (nel 2012 le prime positività sono avvenute nel mese di luglio), della situazione climatica, della valutazione del monitoraggio entomologico e della possibilità di destinare risorse all'individuazione degli uccelli selvatici reservoir del virus (valutazione del rischio).



Trappole posizionate

Nel 2012 sono state posizionate in Veneto 24 trappole CDC-CO₂ (Tabella 1), attive dalla prima settimana di maggio alla prima settimana di novembre.

Tabella 1 – Siti attivi nel 2012 nella REGIONE VENETO

ID Sito	ULSS	Comune	Provincia
190	3	Nove	VI
184	6	Vicenza	VI
202	6	Villaga	VI
177	7	Revine Lago	TV
178	7	Codognè	TV
175	8	Volpago del Montello	TV
176	8	Borso del Grappa	TV
179	9	Salgareda	TV
181	9	Treviso	TV
1	10	Caorle	VE
198	10	Caomaggiore	VE
3	12	Quarto d'Altino	VE
4	12	Venezia	VE
6	13	Campagna Lupia	VE
18	16	Brugine	PD
14	18	Trecenta	RO
162	18	Ficarolo	RO
163	18	Castenovo Bariano	RO
227	18	Ceneselli	RO
9	19	Papozze	RO
228	19	Ariano nel Polesine	RO
229	19	Taglio di Po	RO
165	21	Casaleone	VR
193	22	Erbè	VR

In totale sono state catturate 104807 culicidi, identificati in 17 specie (Tabella 2).

Come per gli anni passati la specie maggiormente diffusa è *Culex pipiens* (75%), seguita da *Ochlerotatus caspius* (13%), *Aedes vexans* (1,87%) e *Anopheles maculipennis* s.l (1,19%). Tutte le altre specie sono rappresentate al di sotto dell'1%.

Tabella 2 – Specie di culicidi identificati in Veneto nel 2012

Specie	tot	%	siti pos	Media zanzare/sito
<i>Culex pipiens</i>	78352	74,72	24	3264,7
<i>Ochlerotatus caspius</i>	14090	13,44	24	587,1
non identificate	7977	7,61	23	346,8
<i>Aedes vexans</i>	1978	1,89	23	86,0
<i>Anopheles maculipennis s.l.</i>	1246	1,19	19	65,6
<i>Aedes albopictus</i>	713	0,68	21	34,0
<i>Aedes/Ochleotatus spp.</i>	299	0,29	5	59,8
<i>Culex modestus</i>	123	0,12	14	8,8
<i>Coquillettidia richiardii</i>	32	0,03	5	6,4
<i>Ochlerotatus annulipes</i>	12	0,01	2	6,0
<i>Culex territans</i>	10	0,01	3	3,3
<i>Culiseta annulata</i>	10	0,01	7	1,4
<i>Uranotaenia unguiculata</i>	8	0,01	1	8,0
<i>Ochlerotatus geniculatus</i>	6	0,01	3	2,0
<i>Aedes koreicus</i>	4	0,004	1	4,0
<i>Anopheles claviger/petragnani</i>	2	0,002	2	1,0
<i>Ochlerotatus sticticus</i>	2	0,002	1	2,0
<i>Anopheles plumbeus</i>	1	0,001	1	1,0
<i>Culex spp.</i>	1	0,001	1	1,0
<i>Culiseta longiareolata</i>	1	0,001	1	1,0

Densità delle zanzare

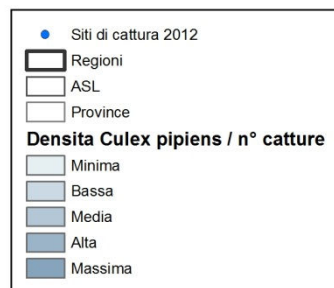
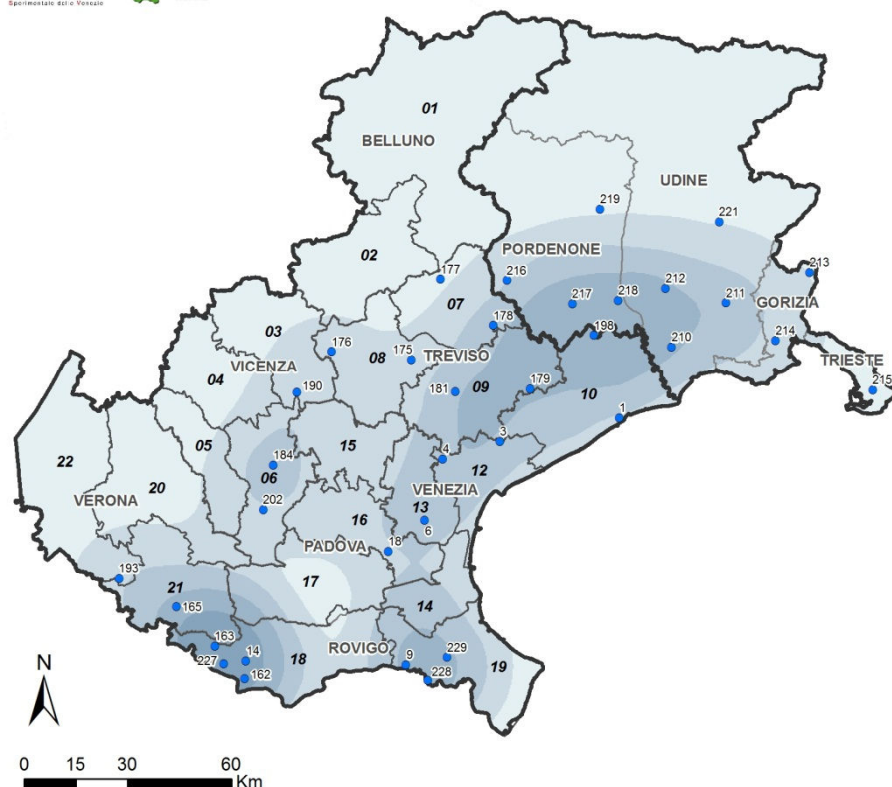
Il 2012 è stato caratterizzato da una elevata densità di zanzare. La densità delle zanzare *Culex pipiens* è comparabile alle densità rilevata nel 2010 (Tabella 3) e risulta il doppio rispetto al 2011.

Tabella 3 – Confronto medie/sito di *Culex pipiens* 2009-2012

anno	Tot zanzare	siti	media/sito	pools
2009	28818	24	1200	400
2010	137965	43	3208	2643
2011	78870	49	1609	2732
2012	78342	24	3264	2537

Le aree a maggior densità di *Culex pipiens* sono visualizzate nella mappa 1, in cui sono riportati anche i confini delle ULSS ed i numeri identificativi delle trappole.

Mappa 1 – Densità di Culex pipiens nel 2012



Nella Tabella 3 sono riportati i numeri totali di zanzare (Culex e altre specie) catturate per sito e i risultati degli anni precedenti per un confronto. In grassetto sono riportati i siti che hanno evidenziato rispetto agli anni precedenti un considerevole aumento di densità.

Tabella 4– Numero di zanzare totali divise per sito e confronto con gli anni precedenti (n.a.= sito non attivo nel 2012)

Cod sito	ULSS	Comune	PV	n° totale zanzare/anno		
				2010	2011	2012
10		Gazzo Padovano	PD	4278	2068	n.a.
12		Padova	PD	970	427	n.a.
18	16	Brugine	PD	1939	1705	1595
8		Rosolina	RO	1523	940	n.a.
9	19	Papozze	RO	5345	3819	8587
14	18	Trecenta	RO	1800	1036	1923
15		Vescovana-S. Maria d'Adige	RO	3285	1172	n.a.
16		Boara Pisani	RO	4038	1299	n.a.
162	18	Ficarolo	RO	17822	2447	5895
163	18	Castenovo Bariano	RO	11608	3189	14070
227	18	Ceneselli	RO			5571
228	19	Ariano nel Polesine	RO			6003
229	19	Taglio di Po	RO			7002

Cod sito	ULSS	Comune	PV	n° totale zanzare/anno		
				2010	2011	2012
176	8	Borso del Grappa	TV	950	772	1032
177	7	Revine Lago	TV	393		23
178	7	Codognè	TV	1792	1042	1331
179	9	Salgareda	TV	3744	2820	7793
180		Quinto di T.	TV	346	132	n.a.
181	9	Treviso	TV	361	280	569
1	10	Caorle	VE	7456	659	3802
3	12	Quarto d'Altino	VE	5360	2659	8338
4	12	Venezia	VE	2943	1598	3080
6	13	Campagna Lupia	VE	2407	1861	4067
198	10	Cinto di Caomaggiore	VE	1794	1332	4407
199		Concordia Sagittaria	VE	5862	2484	n.a.
182		Pojana Maggiore	VI	3884	1406	n.a.
183		Arcugnano	VI	955	616	n.a.
184	6	Vicenza	VI	4121	1284	6088
185		Dueville	VI	345	373	n.a.
186		Zugliano	VI	132	79	n.a.
187		Malo	VI	409	611	n.a.
188		Trissino	VI	694		n.a.
189		Bassano del Grappa	VI	141		n.a.
190	3	Nove	VI	1404	256	441
202	6	Villaga	VI			1812
165	21	Casaleone	VR	6312	3889	5200
167		Oppeano	VR	1653	4602	n.a.
173		Buttapietra	VR	1044	1711	n.a.
191		Ronco all'Adige	VR	3965	4191	n.a.
192		Peschiera del G.	VR	25		n.a.
193	22	Erbè	VR	5719	7643	6916
194		Valeggio s. M.	VR	601	992	n.a.
195		Nogarole Rocca	VR	7274	4350	n.a.
196		Belfiore	VR	4324	6223	n.a.
197		Verona	VR	638	613	n.a.

Ricerca del virus WN in pool di zanzare

Nel 2012 sono stati esaminati per Flavivirus, tramite real-time PCR, n. 2537 pool di zanzare suddivisi per specie (Tab 5):

Tabella 5 – Specie di zanzare esaminate e pool positivi per WNV e USUV

Specie	Pool esaminati	Pos WNV	Pos USUV
<i>Culex pipiens</i>	1681	11	24
<i>Ochlerotatus caspius</i>	409	0	0
<i>non ident</i>	0	0	0
<i>Aedes vexans</i>	122	0	0
<i>Anopheles maculipennis s.l.</i>	91	0	0
<i>Aedes albopictus</i>	149	0	0
<i>Aedes/Ochleotatus spp.</i>	5	0	0
<i>Culex modestus</i>	37	0	0
<i>Coquillettidia richiardii</i>	13	0	0
<i>Ochlerotatus annulipes</i>	2	0	0
<i>Culex territans</i>	6	0	0
<i>Culiseta annulata</i>	10	0	0
<i>Uranotaenia unguiculata</i>	0	0	0
<i>Ochlerotatus geniculatus</i>	3	0	0
<i>Aedes koreicus</i>	3	0	0
<i>Anopheles claviger/petragnani</i>	2	0	0
<i>Ochlerotatus sticticus</i>	0	0	0
<i>Anopheles plumbeus</i>	1	0	0
<i>Culex spp.</i>	1	0	0
<i>Culiseta longiareolata</i>	1	0	0

In totale 13 pool di zanzare sono risultate positive WNV di cui 11 in Veneto ed i siti positivi sono riportati nella Tabella 5 . Vengono riportati i tassi di infezione WNV nelle zanzare (ERI) riferiti unicamente al sito di cattura ed anche il **Vector Index**, che in pratica combina il tasso di infezione con l'abbondanza delle zanzare in quell'area (considerando le zanzare catturate nella trappola positiva e le altre trappole nel raggio di 25 km) nella stessa settimana di cattura.

Tabella 6 – Siti positivi per WN, tasso di infezione atteso e Vector index

PV	zona	Comune	Data cattura	tot <i>Cx.pipiens</i> in un buffer di 25 km (stessa settimana)	n catture x buffer/ sett.	media <i>Cx.pi</i> area 25 km	pool pos WN	Tasso infezione stimato (ERI %)	VECTOR INDEX (area 25 km)
UD	ACV	Piancada	17/07/12	2970	4	742,50	1	0,052	0,25
VE	ACV	Cinto Caomaggiore	31/07/12	1912	4	478,00	2*	0,209	0,50
TV	ACV	Salgareda	31/07/12	2120	4	530,00	2**	0,108	0,50
		Salgareda	06/08/12	1411	5	282,20	3	0,343	0,60
VE	ACV	Caorle	07/08/12	485	2	242,50	1	0,404	0,50
RO	ACV	Ceneselli	21/08/12	716	5	143,20	1	0,574	0,20
VE	ACV	Caorle	22/08/12	900	3	300	2	0,457	n.a. (0,67) [^]
VE	ACV	Quarto d'Altino	28/08/12	443	4	110,75	1	0,946	0,25
UD	ACV	Piancada	28/08/12	410	4	102,50	1	0,538	0,25
VE	ACV	Caorle	06/09/12	278	3	92,67	1	0,841	n.a. (0,33) [^]

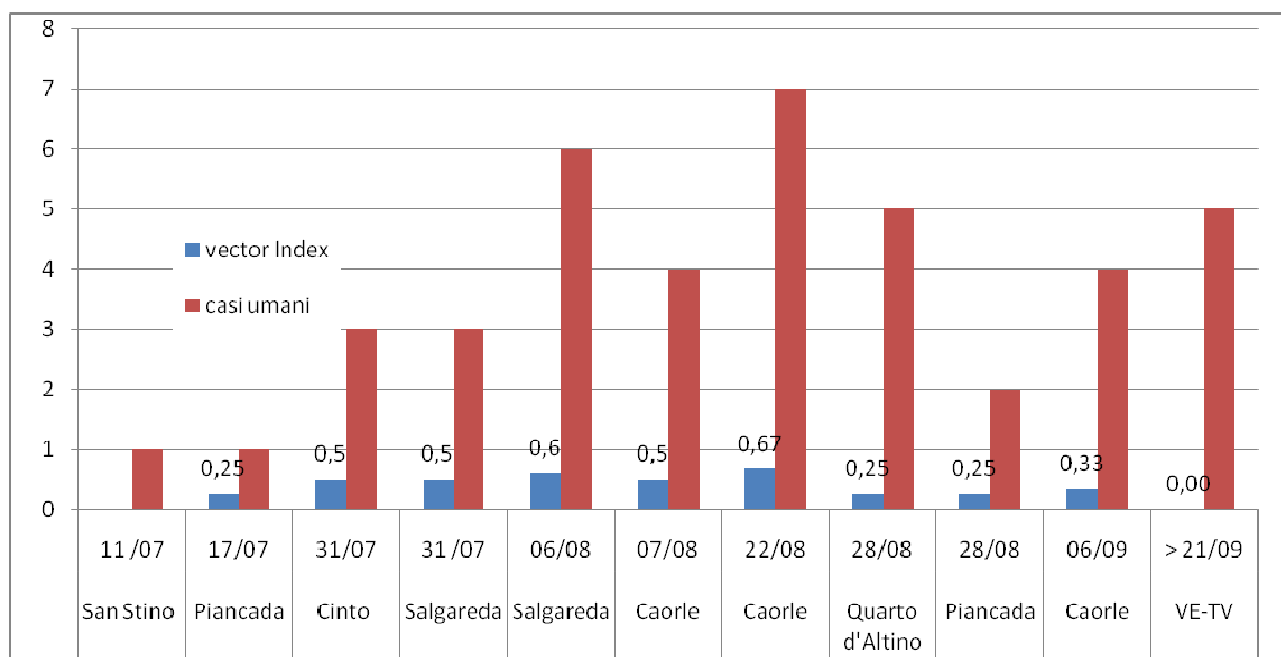
* compreso il pool pos di Salgareda lo stesso giorno ** compreso il pool pos di Cinto lo stesso giorno; ACV=area a circolazione virale; n.a.=non applicabile

[^] Nel caso di Caorle nei campionamenti del 22/08 e 06/09 il Vector Index non sarebbe applicabile poiché nell'area nella settimana corrispondente era attiva solo quella trappola. Tuttavia includendo nel calcolo le trappole adiacenti monitorate la settimana dopo, il Vector Index sarebbe stato di 0,67 alla fine di agosto, indice di alto rischio di trasmissione all'uomo nelle aree adiacenti, e di 0,33 a settembre che dovrebbe indicare una diminuzione del rischio.

Non esiste una soglia di Vector Index stabilita a priori che identifichi con sicurezza il rischio per l'uomo ed ogni area deve caratterizzare il proprio indice. Secondo la bibliografia un Vector Index uguale o maggiore di **0.5/0.7** è indicativo di alto rischio di casi umani nelle settimane seguenti.

La Figura 4 seguente è possibile apprezzare la relazione fra valore del Vector Index calcolato nel 2012 ed il numero di casi umani verificatesi nella stessa area nelle due settimane successive.

Figura 4



Anche se la relazione non è perfetta indicativamente nella stagione 2012 un Vector Index di 0,5 o superiore ha indicato un aumento di casi umani. Nella prossima stagione 2013 è programmato un campionamento più intenso nell'area delle province di Venezia e Treviso con cadenza settimanale, per valutare in modo più significativo l'applicabilità di questo indice a fini predittivi.

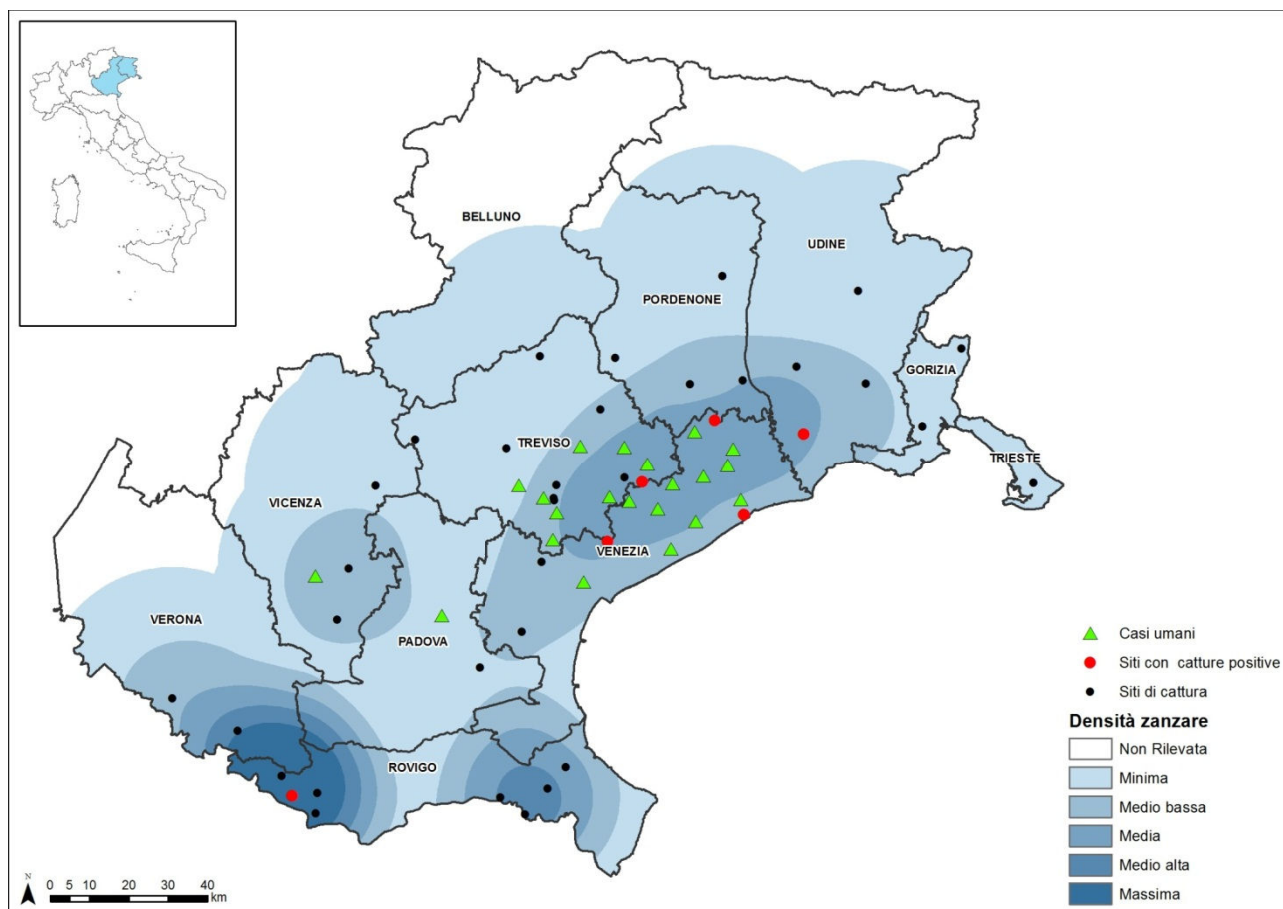
WNV lineage 2 ceppo greco in provincia di Rovigo

Tutte le sequenze virali ottenute nei siti positivi per WN nelle province di Venezia e Treviso corrispondono al ceppo Livenza, già individuato nell'uomo nel 2011 dal centro di riferimento regionale di Padova.

A Rovigo, comune Ceneselli, la sequenza WN ottenuta è risultata invece omologa al 100% a WN lineage 2, ceppo greco 2010. Questo ceppo, *mai introdotto prima nella nostra regione*, nel 2010 aveva mostrato particolare virulenza nell'uomo. Le indagini genetiche effettuate hanno evidenziato nel gene NS3 la stessa sostituzione amminoacidica (H₂₄₉P) ritrovata nel ceppo greco 2010 e nel ceppo New York 1999. Questa sostituzione è stata sospettata essere in relazione con la particolare patogenicità dei due ceppi negli animali e nell'uomo.

Nella mappa seguente (mappa 2) sono riassunti i risultati della sorveglianza entomologica (densità di *Culex pipiens* e siti positivi per virus WN nelle zanzare). Sono riportate anche le aree in cui sono stati rilevati casi umani.

Mappa 2





SORVEGLIANZA DEI CASI UMANI DI MALATTIE TRASMESSE DA VETTORI CON PARTICOLARE RIFERIMENTO ALLA CHIKUNGUNYA, DENGUE E WEST-NILE DISEASE 2012

L'infezione da *West-Nile virus* è stata per la prima volta identificata in Italia nel 1998, quando la malattia fu segnalata in alcuni cavalli in Toscana. Il virus ricomparve nel 2008 quando sono stati riportati casi equini ed umani di malattia neuroinvasiva da West-Nile in Veneto (6 casi) e in Emilia-Romagna (3 casi). Nel 2009, si è osservato un aumento del numero di casi umani e la diffusione ad una area geografica più ampia (9 casi in Emilia-Romagna, 7 in Veneto e 2 in Lombardia).

La sorveglianza epidemiologica del virus West-Nile in Veneto è stata attivata nell'estate del 2008, quando furono segnalati casi confermati in equini di un allevamento nella Provincia di Rovigo. La sorveglianza rapida nei ricoverati per meningoencefalite ad eziologia sconosciuta, ha permesso di identificare, nel 2008, 6 casi umani di malattia neuroinvasiva da WNV (WNND) nella stessa Provincia interessata dai casi equidi.

Nel 2009, in seguito al ripetersi di casi umani di WNND (6 casi tra cui un decesso) e al crescente numero di province interessate (Rovigo e Venezia), la Regione Veneto ha attivato un piano di sorveglianza integrato clinico, entomologico e veterinario per la sorveglianza attiva e il monitoraggio della circolazione del WNV nell'uomo, nelle zanzare e negli animali.

Nel corso dell'anno 2010 sono stati notificati 3 casi autoctoni di malattia neuroinvasiva da West-Nile di cui 2 casi della provincia di Venezia (di questi uno ricoverato e reso noto dalla Regione Friuli Venezia Giulia) e un caso nella provincia di Vicenza. Inoltre è stato segnalato un caso importato relativo ad un soggetto di ritorno dalla Romania.

Nel 2011 la Regione Veneto, sulla base della pubblicazione della circolare del ministero della Salute "Sorveglianza dei casi umani delle malattie trasmesse da vettori con particolare riferimento alla chikungunya, dengue e West-Nile Disease - 2011", ha nuovamente attivato il Sistema di Sorveglianza integrato a livello regionale.

Grazie alla sorveglianza sono stati notificati 9 casi di malattia neuroinvasiva da West-Nile tutti notificati dalla fine di agosto a fine settembre di cui due decessi: 6 casi residenti nella provincia di Treviso, due nella provincia di Venezia e uno nella provincia di Belluno.

Nel 2012 la sorveglianza è iniziata come da disposizioni della Circolare ministeriale, la quale ha fornito anche degli aggiornamenti rispetto a quella emessa nell'anno precedente.

Nell'arco dell'intero periodo di sorveglianza, fissato dal 15 giugno al 30 novembre, sono stati segnalati 22 casi di malattia neuroinvasiva da *West-Nile virus* (Tabella 6). Si tratta di soggetti principalmente residenti nelle Aziende ULSS 9 di Treviso e 10 di San Donà di Piave (VE) per i quali è pervenuta la conferma al test di neutralizzazione dal Laboratorio di riferimento di Padova e che rispondono alla definizione di caso prevista dalla circolare del Ministero della Salute del 12.06.2012.

Tabella 6: Casi notificati di WNNd nella Regione Veneto. Anno 2012.

N.	Sesso	Età	Residenza	Inizio sintomi	ULSS
1	F	87	Cimadolmo (TV)	10/08/2012	9
2	F	66	S. Donà Di Piave (VE)	16/08/2012	10
3	F	78	S. Donà Di Piave (VE)	22/08/2012	10
4	M	69	Prà Maggiore (VE)	20/08/2012	10
5	F	60	Oderzo (TV)	21/08/2012	9
6	F	90	Portogruaro (VE)	27/08/2012	10
7	M	49	Jesolo (VE)	28/08/2012	10
8	M	70	S. Donà di Piave (VE)	01/09/2012	10
9	M	78	Eraclea (VE)	20/08/2012	10
10	F	10	Jesolo (VE)	25/08/2012	10
11	M	21	Concordia Sagittaria	21/08/2012	10
12	F	82	Jesolo (VE)	10/08/2012	10
13	M	55	Piazzola sul Brenta (PD)	27/08/2012	15
14	M	78	Caorle	18/08/2012	10
15	M	83	S. Stino di Livenza	13/09/2012	10
16	M	69	Chiarano (TV)	30/08/2012	9
17	M	26	Casier (TV)	09/09/2012	9
18	F	68	Mogliano Veneto (TV)	14/09/2012	9
19	F	74	Concordia Sagittaria (VE)	05/10/2012	10
20	M	89	Oderzo (TV)	07/10/2012	9
21	M	50	Concordia Sagittaria (VE)	03/09/2012	10
22	M	61	Spinea	18/07/2012	13

Il primo caso ha manifestato i sintomi della malattia in data 10/08/2012, mentre l'esordio dei sintomi dell'ultimo caso confermato è riferito in data 07/10/2012. Si tratta di 9 femmine e 13 maschi. Ad eccezione di un solo caso pediatrico riscontrato in una bambina di 10 anni, i casi di malattia neuroinvasiva hanno interessato soggetti adulti con un'età compresa tra i 21 e i 90 anni di età. Dalla azienda Ulss 10 sono stati segnalati due decessi.

La Regione ha immediatamente allertato il Ministero della Salute, l'Istituto Superiore di Sanità, il Centro Nazionale Sangue e il Coordinamento regionale per le attività trasfusionali.

Come da indicazioni per la stagione estivo - autunnale 2012 del Centro Nazionale Sangue (circolare n.1037 del 19.06.2012) per la prevenzione della trasmissione trasfusionale del WNV basata sulla sorveglianza attiva dei donatori di sangue, è stata confermata l'introduzione del NAT testing (Test di amplificazione genica) per WNV nelle province di Treviso, Belluno e Venezia dal 15 giugno al 30 novembre e l'attivazione della sospensione per 28 giorni dei donatori in transito in tali province.

Dai controlli relativi alla sicurezza trasfusionale sono stati individuati 14 donatori positivi al test NAT: 11 afferenti alla provincia di Venezia e 3 a quella di Treviso.

È stata inoltre intensificata la sorveglianza entomologica e le attività di disinfestazione nelle due province interessate. Sono state riscontrate positività per West-Nile in zanzare nelle province di Venezia, Treviso e Rovigo; in quest'ultima provincia le positività riguardavano siti collocati in area di sorveglianza esterna all'area di circolazione virale da West-Nile.

IL SISTEMA DI SORVEGLIANZA DELLE FEBBRI ESTIVE IN REGIONE VENETO

Dal 2010 nella Regione Veneto è stata attivata la sorveglianza delle febbri estive allo scopo di favorire l'identificazione precoce del maggior numero possibile dei casi di malattie trasmesse da vettori (chikungunya, dengue e West-Nile) nel nostro territorio, facilitando in tal modo la presa in carico clinica dei pazienti e la sorveglianza epidemiologica, permettendo di intraprendere tempestivamente le necessarie misure di controllo ove fosse necessario, in sinergia con la sorveglianza entomologica e veterinaria.

Sulla base dell'esperienza dell'attività di sorveglianza del 2011 e alle criticità osservate, le linee operative per la sorveglianza nel 2012 hanno subito delle integrazioni e delle parziali modifiche rispetto a quelle dell'anno precedente.

In particolare le principali criticità riscontrate sono state le seguenti:

- mancata compilazione in molti casi delle schede di notifica, soprattutto per i casi negativi ai test di primo livello (mancanza di un denominatore completo ed affidabile);
- inadeguatezza del flusso informativo (esiguo numero di schede pervenute alla Regione tra quelle compilate);
- sottonotifica, in particolare, delle febbri da WNV rispetto ai casi di malattia neuroinvasiva;
- irregolare/insufficiente raccordo con le strutture deputate alla sorveglianza entomologica.

Le linee operative del 2012 hanno previsto un sistema di notifica e di richiesta esami semplificato che permettesse di colmare le inadeguatezze del precedente protocollo.

In particolare è stata avviata a livello regionale un'attività di sorveglianza attiva con richiesta settimanale, via e-mail a tutti i referenti per la sorveglianza delle febbri estive dei Laboratori di Microbiologia e delle Malattie infettive delle Aziende Ulss ed Ospedaliere del Veneto, del numero di casi esaminati delle malattie sotto sorveglianza (sia con esito positivo che negativo) e con la richiesta dello "zero reporting". I referenti erano tenuti ad inviare una tabella riassuntiva del numero di casi sottoposti a test rapido se almeno un paziente veniva testato per dengue e chikungunya, mentre per i casi possibili di febbre da West-Nile veniva chiesto l'invio della scheda semplificata di richiesta degli esami di accertamento.

I RISULTATI DEL SISTEMA DI SORVEGLIANZA

Come previsto dalla Circolare Ministeriale "Sorveglianza dei casi umani delle malattie trasmesse da vettori con particolare riferimento alla chikungunya, dengue e West-Nile anche per l'anno 2012, la sorveglianza è iniziata il 15 giugno e si è conclusa il 30 novembre, per un totale di 25 settimane.

Durante questo periodo, sono stati sottoposti a test di laboratorio specifici per le febbri dengue e chikungunya 125 soggetti, mentre i pazienti sottoposti a screening per West-Nile virus sono stati 319.

Febbri dengue e chikungunya

Nel periodo di sorveglianza compreso tra il 15 giugno e il 30 novembre 2012, sono stati testati 126 pazienti per accertare o meno la presenza dei virus dengue e chikungunya.

I primi 3 test sono stati effettuati nell'Azienda Ulss 12 già nella prima settimana di sorveglianza, mentre gli ultimi 2 test sono stati condotti su un caso confermato dell'Azienda Ulss 6 e su un paziente dell'Azienda Ulss 21 durante l'ultima settimana di sorveglianza.

In generale, il 26% dei test è stato eseguito nell'Ulss 18, il 21% nell'Ulss 22 e il 19% nelle Ulss n. 12 e n.16. Un solo test è stato effettuato nei territori di Thiene e di Legnago.

7 pazienti sono risultati positivi per Dengue virus (Tabella 7). Il primo caso è un soggetto residente

nell'Azienda Ulss 17 e ha manifestato i primi sintomi della malattia negli ultimi giorni del mese di agosto, mentre l'ultimo caso riguarda un residente nell'Ulss 6 e riporta sintomi febbrili durante l'ultima settimana di novembre. I soggetti colpiti dalla malattia hanno un'età compresa tra i 27 e i 64 anni; 3 pazienti sono di sesso maschile, mentre 4 sono femmine.

Tabella 7: Casi notificati di dengue nella Regione Veneto. Anno 2012.

N.	Sesso	Età	Inizio sintomi	Soggiorno estero	Comune residenza	ULSS	Tipo virus
1	M	35	29/08/2012	Thailandia	Megliadino San Fidenzio (PD)	17	Denguevirus 3
2	F	27	12/10/2012	Thailandia	Oppeano (VR)	21	Denguevirus 3
3	F	27	13/10/2012	Haiti	Cittadella (PD)	15	
4	M	56	22/10/2012	Rep.Dominicana	Cornuda (TV)	8	Denguevirus 1
5	M	64	23/10/2012	Madeira	Verona	20	
6	F	27	26/08/2012	India	Marano Valpolicella	22	
7	F	38	30/11/2012	Puerto Rico	Vicenza	6	Denguevirus 1

Due pazienti hanno riportato una positività per Chikungunya virus (Tabella 8). Si tratta di due adolescenti, un maschio ed una femmina, residenti nell'Azienda Ulss 6, di ritorno da un viaggio in India. Uno dei due casi è risultato asintomatico.

Tabella 8: Casi notificati di chikungunya nella Regione Veneto. Anno 2012.

N.	Sesso	Età	Inizio sintomi	Soggiorno estero	Comune residenza	ULSS
1	F	14	02/09/2012	INDIA	Grancona (VI)	6
2	M	15	asintomatico	INDIA	Grancona (VI)	6

Complessivamente sono quindi 9 i soggetti risultati positivi per dengue o chikungunya e rappresentano il 7,1% del totale dei test effettuati.

West-Nile Fever

319 soggetti sono stati sottoposti a test diagnostici per rilevare la presenza del *West-Nile virus*.

Nel corso della prima settimana di sorveglianza sono stati testati 11 pazienti; mentre gli ultimi 2 test sono stati eseguiti nella settimana tra il 19 e il 25 novembre.

Il 54% dei test è stato effettuato nell'Azienda Ulss 9 e il 25% nel territorio di Padova.

Di tutti i test fatti, 16 sono risultati positivi per West-Nile Fever e rappresentano il 5,3% di tutti i test effettuati (Tabella 9).

Si tratta di 4 femmine e 12 maschi, con età superiore ai 44 anni.

La maggior parte dei casi si è verificata nell'Azienda Ulss 10 (9 casi, ovvero il 53% dei 17 casi totali). Un caso risulta residente nell'Ulss 9, uno nell'Ulss 16, due pazienti risiedono nell'Ulss 12 e tre nell'Ulss 3.

Il primo caso ha manifestato i sintomi febbrili a metà luglio, mentre gli ultimi due casi riportano una data di inizio sintomi in corrispondenza della fine del mese di settembre.

Tabella 9: Casi notificati di WN Fever nella Regione Veneto. Anno 2012.

N.	Sesso	Età	Residenza	Inizio sintomi	ULSS
1	M	61	Spinea (VE)	17/07/2012	13
2	M	53	Fossalta di Piave (VE)	N.D.	10
3	F	54	Mason Vicentino (VI)	10/08/2012	3
4	M	53	Cartigliano (VI)	27/09/2012	3
5	F	46	Padova	25/08/2012	16
6	M	76	Marghera (VE)	17/08/2012	12
7	F	63	San Donà di Piave (VE)	08/09/2012	10
8	M	76	Portogruaro (VE)	04/09/2012	10
9	F	70	Muggiò (MB)	15/09/2012	10
10	M	69	San Donà di Piave (VE)	22/08/2012	10
11	M	63	Monastier (TV)	02/09/2012	9
12	M	80	Jesolo (VE)	14/09/2012	10
13	M	45	Portogruaro (VE)	22/07/2012	3
14	M	55	Eraclea (VE)	08/09/2012	10
15	M	71	Jesolo (VE)	27/09/2012	10
16	M	61	Eraclea (VE)	28/09/2012	10

Considerazioni conclusive sul Sistema di Sorveglianza delle febbri estive

I risultati ottenuti nel 2012 dalla sorveglianza delle febbri da *West-Nile virus* si possono considerare molto soddisfacenti, sia perché è stato raggiunto un numero significativo di campioni testati (oltre il doppio dell'indicatore di risultato previsto di 150 soggetti testati), sia per quanto riguarda la risposta alla sorveglianza attiva. Si ritiene tuttavia necessaria in futuro una maggiore accuratezza nella raccolta dati per avere un denominatore più preciso.

La sorveglianza delle febbri da dengue e chikungunya invece non ha dato un risultato del tutto soddisfacente in quanto sono stati testati solo 126 viaggiatori febbrili (tutti testati per entrambe le virosi) su un totale di 210 test individuati come indicatore minimo. E' stato talora riscontrato un uso non appropriato dei test rapidi in pazienti senza storia di viaggio, pertanto risulta che il protocollo non è stato osservato in modo puntuale. È necessario ricordare che il caso febbrile al rientro da un paese tropicale va riferito prontamente all'U.O. specialistica, perché potrebbe essere una malaria (malattia spesso aggravata dal ritardo diagnostico, talvolta con conseguenze fatali). I casi sottoposti a ricerca malaria che risultano negativi dovrebbero essere sottoposti tutti a test per dengue o chikungunya tramite i test rapidi.

Si ravvisa inoltre la necessità di un maggior coinvolgimento dei Medici di Pronto Soccorso e dei Medici di Medicina Generale.



Attività realizzate rispetto agli obiettivi dichiarati e risultati raggiunti

L'attività di sorveglianza dei casi autoctoni e di importazione di infezione da chikungunya virus e da dengue virus, così come di altre patologie infettive, è estremamente importante al fine di identificare tempestivamente focolai di infezione per poterli isolare e circoscrivere e per attuare gli opportuni interventi di disinfezione delle aree coinvolte. Il protocollo di sorveglianza per le febbri estive di importazione attuato nel 2012, in collaborazione con i Reparti di Malattie Infettive e i SISP della Regione Veneto, aveva l'obiettivo di identificare precocemente i casi di chikungunya e dengue "importati" nel territorio veneto da viaggiatori in aree endemiche, compresi i cittadini stranieri di prima immigrazione o "VFR" (viaggi temporanei nel paese d'origine), oltre a identificare i casi autoctoni di febbre da West Nile virus (WNV).

In particolare, erano definiti i seguenti obiettivi del progetto:

Aumentare la sensibilità della sorveglianza delle febbri in pazienti rientrati da soggiorni tropicali con particolare riferimento alle arbovirosi.

Individuare precocemente casi autoctoni di arbovirosi potenzialmente trasmesse da zanzare presenti nel territorio veneto.

Per l'attività di sorveglianza, secondo quanto previsto dal "Protocollo per la sorveglianza delle febbri estive in Regione Veneto, anni 2011-2012 nell'ambito del PRP 2010-12, il nostro Laboratorio Regionale di Riferimento ha eseguito tutte le indagini diagnostiche di livello B e C indicati nel protocollo e specificati nell'allegato 3 del protocollo stesso.

Per quanto concerne il primo obiettivo, nel 2012 sono stati diagnosticati tempestivamente diversi casi di dengue e chikungunya d'importazione. Alcuni pazienti erano ancora viremici al momento della diagnosi e quindi potenzialmente in grado di trasmettere il virus attraverso il vettore *A. albopictus*.

In particolare, nel 2012, durante il periodo di sorveglianza, dal 15 giugno al 30 novembre, sono pervenuti al Laboratorio Regionale di Riferimento circa 150 casi possibili/probabili di febbri estive di importazione. In due casi è stata confermata l'infezione da chikungunya virus e in nove casi è stata fatta diagnosi di dengue di importazione (Tabella 14). Inoltre, nei mesi di dicembre 2012 e gennaio 2013 sono stati confermati altri 5 casi di dengue di importazione (Tabella 14).

Tabella 14- Casi di dengue e chikungunya di importazione confermati dal Laboratorio di Riferimento Regionale nel periodo giugno 2012-gennaio 2013.

Età	Sesso	Ulss Referente	Data	Paese Visitato	Diagnosi	Genotipo
28	F	ASL 15	26/10/2012	Haiti	Dengue	
27	F	ASL 22 Bussolengo	17/09/2012	India (Kerala, Calcutta)	Dengue	
36	M	ASL 17 Este	01/09/2012	Thailandia	Dengue	3
39	M	ASL Stati Esteri	05/12/2012	Puerto Rico	Dengue	1
29	M	ASL 22 Bussolengo	05/11/2012	India (New Delhi, Jaipur)	Dengue	
65	M	ASL 20 Verona	30/10/2012	Portogallo (Madeira)	Dengue	
56	M	Asl 08 - Asolo	08/11/2012	Repubblica Dominicana	Dengue	1
15	M	ASL 05 - Arzignano	26/09/2012	Bangladesh	Chikungunya	
22	F	ASL Trento	12/10/2012	India (Kolkata, Varanasi)	Dengue	
27	F	ASL 22 Bussolengo	17/10/2012	Thailandia	Dengue	3
15	F	ASL 6 Vicenza	10/09/2012	India	Chikungunya	
66	M	ASL 16 Padova	03/09/2012	Indonesia	Dengue	
27	F	ASL 22 Bussolengo	14/12/2012	India	Dengue	
52	M	Asl 12	20/12/2012	Laos	Dengue	
27	F	ASL 22 Bussolengo	21/12/2012	India	Dengue	
51	M	AO Padova	15/01/2013	Thailandia	Dengue	3
41	M	OC Bassano del Grappa	22/01/2013	Brasile	Dengue	4

Per quanto concerne il secondo obiettivo, nel 2012, così come negli anni precedenti, sono stati identificati casi autoctoni di febbre West Nile in Veneto, ma non casi autoctoni di dengue e chikungunya.

In particolare, durante il periodo di sorveglianza, dal 15 giugno 2012 al 30 novembre 2012, sono stati inviati al Laboratorio di Riferimento Regionale 438 casi di possibile infezione da WNV, 175 dei quali casi possibili di malattia neuro-invasiva da WNV e 263 casi possibili di febbre West Nile.

I test di laboratorio hanno confermato 21 casi di malattia neuro-invasiva da WNV e 17 casi di febbre da WNV. Sono stati identificati inoltre due casi di infezione asintomatica da WNV in familiari di pazienti con malattia neuro-invasiva da WNV. Il primo caso umano di infezione da WNV è stato diagnosticato il 15 luglio 2012, in anticipo rispetto agli anni precedenti (figura 1). La maggior parte dei casi umani di infezione era residente nelle provincie di Venezia e Treviso (figura 2).

L'età mediana dei pazienti con malattia neuro-invasiva era 69 anni (range, 10-90 anni), mentre l'età mediana dei pazienti con febbre da WNV era 63 anni (range, 45-80 anni). La malattia neuro-invasiva colpisce tipicamente soggetti anziani, ma, tra i casi del 2012, vi erano 3 pazienti di età inferiore a 30 anni. I sintomi più comuni erano febbre, cefalea, astenia, mialgia, artralgia, sia nei pazienti con malattia neuro-invasiva che con febbre. La maggior parte dei donatori di sangue positivi al test WNV RNA NAAT hanno manifestato questi stessi sintomi durante il follow-up.

Al momento della diagnosi, tutti i pazienti erano positivi alla ricerca di WNV IgM su siero e circa l'80% era positivo alla ricerca di IgG. In tutti i 16 pazienti con malattia neuro-invasiva per i quali era disponibile un campione di liquor, è stata dimostrata la presenza di WNV IgM nel liquor, mentre anticorpi della classe IgG erano presenti nel 44% dei campioni di liquor. Poiché gli anticorpi anti-WNV possono cross-reagire con altri flavivirus e dare risultati falsi positivi anche in presenza di altre malattie infettive, come per esempio la malaria e la mononucleosi infettiva, è stato eseguito in tutti i casi il test di conferma mediante neutralizzazione delle placche (PRNT).

La ricerca diretta di WNV RNA nel plasma mediante test molecolare è risultato essere un test specifico che ha consentito di confermare il sospetto diagnostico durante la fase acuta dell'infezione nel 33% dei pazienti con malattia neuro-invasiva e nel 20% dei pazienti con febbre da WNV. In questo studio è stata valutata la presenza di WNV RNA anche in campioni di urina, e questo ha portato alla dimostrazione che la ricerca dell'RNA virale nelle urine mediante real-time RT-PCR è un test più sensibile rispetto alla ricerca degli acidi nucleici virali nel plasma e consente di rilevare la presenza di WNV RNA per periodi di tempo più prolungati che nel plasma. Infatti, in alcuni dei pazienti di questo studio, la presenza di WNV RNA nelle urine è stata riscontrata a distanza di un mese dall'esordio dei sintomi, quando erano già presenti IgM e IgG nel siero e il paziente non era più viremico. Il test di real-time RT-PCR ha consentito di stimare la carica virale nel sangue e nelle urine dei pazienti, dimostrando che la carica nelle urine era superiore (fino a 300.000 genomi equivalenti/mL) a quella riscontrata nel plasma (fino a 10.000 genomi equivalenti/mL).

L'isolamento virale in coltura di cellule Vero è stato allestito con tutti i campioni di siero e urina risultati positivi al test RT-PCR. È stato possibile isolare il virus solamente da un campione di siero ottenuto da un donatore di sangue, che era positivo alla real-time RT-PCR, ma IgM e IgG negativo al momento del prelievo.

Figura 5— Distribuzione nel tempo dei casi confermati di infezione da WNV. WNND: pazienti con malattia neuro-invasiva; WNF: febbre West Nile.

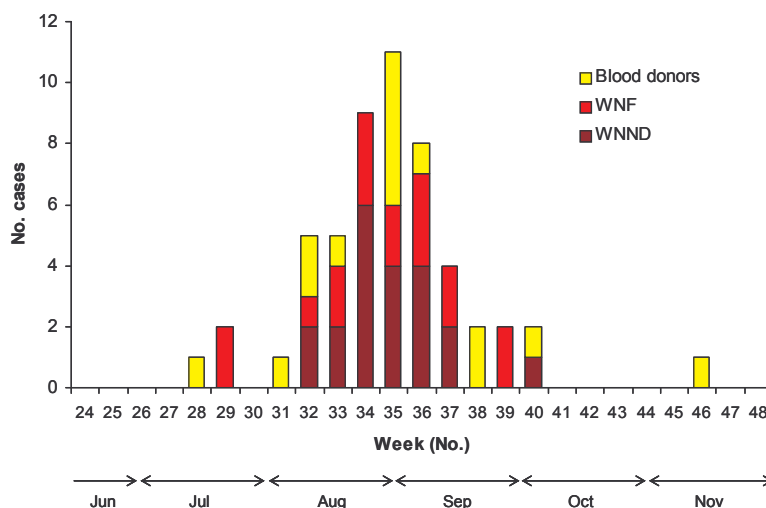
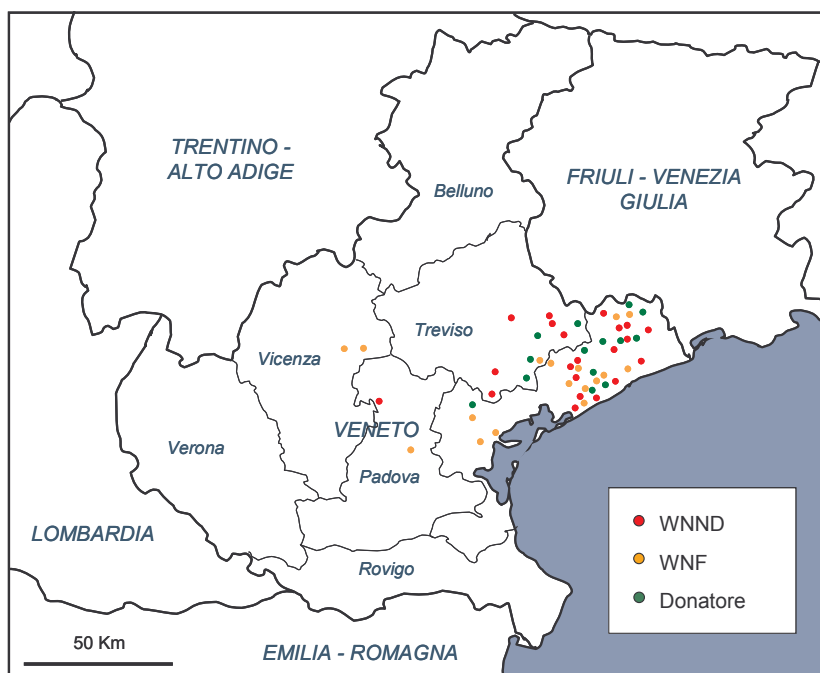


Figura 6 - Distribuzione geografica dei casi confermati di infezione da WNV. WNND: pazienti con malattia neuro-invasiva; WNF: febbre West Nile.



Attività avviate o in corso di svolgimento rispetto agli obiettivi dichiarati ed eventuali risultati raggiunti

Le attività di sorveglianza proseguono per tutto l'anno. Nei mesi invernali e primaverili l'attività di sorveglianza riguarda soprattutto i pazienti di ritorno da Paesi dove dengue e chikungunya sono malattie endemiche.

Eventuali obiettivi disattesi e relative motivazioni

Tutti gli obiettivi previsti dal progetto sono stati raggiunti. Sono state eseguite inoltre tutte le attività previste dal progetto.

Eventuali rimodulazioni degli obiettivi e relative motivazioni

Sulla base dell'esperienza acquisita nell'anno 2012, per l'anno 2013 si propone di introdurre nel protocollo diagnostico il test di ricerca virale nelle urine con metodo molecolare. Sia dengue che WNV possono essere presenti nelle urine più a lungo e con carica più elevata che nel sangue. L'introduzione di questo test consentirebbe di confermare più rapidamente i casi di infezione.



SORVEGLIANZA E PREVENZIONE DELL'INFEZIONE DA WEST-NILE VIRUS (WNV) MEDIANTE LA TRASFUSIONE DI EMOCOMPONENTI LABILI NELLA STAGIONE ESTIVO-AUTUNNALE 2012.

Con nota del Centro Nazionale Sangue del 19.06.2012 le Strutture regionali di coordinamento per le attività trasfusionali e le strutture regionali di Sanità Pubblica sono state invitate ad instaurare e mantenere stretti rapporti di comunicazione in merito agli esiti delle misure di sorveglianza (entomologica, veterinaria e umana) della circolazione del WNV al fine di intercettare tempestivamente un eventuale innalzamento del livello di rischio per la trasmissione trasfusionale e consentire il conseguente aggiornamento in tempo reale delle misure per la sua prevenzione.

Per la stagione estivo autunnale è stata adottata una linea di intervento per la trasmissione trasfusionale del WNV basata sull'adozione di misure di sorveglianza attiva dei donatori di sangue, graduata sulla base del livello di rischio elevato nelle province di Treviso, Belluno e Venezia con l'introduzione del Nat testing per WNV sulle donazioni di sangue ed emocomponenti dal 15 luglio al 30 novembre con tecnica in minipool o su singolo campione.

Per i donatori che avessero soggiornato temporaneamente (anche solo per una notte) in queste province veniva applicata la sospensione dalla donazione per 28 giorni.

Nel caso in cui gli esiti della sorveglianza epidemiologica risultassero indicativi di una significativa circolazione WNV, nonché nel caso fosse segnalato un caso umano confermato di WNND da WNV o un caso umano confermato di infezione acuta da WNV non neuro invasivo in aree provinciali in cui non era già in essere il testing delle donazioni mediante WNV NAT, il test doveva essere garantito—su singolo campione— su tutte le donazioni da donatori residenti in quella Provincia fino al termine del periodo di sorveglianza .

Tabella 15-Riepilogo dati screening WNV NAT periodo 15 luglio-30 novembre

REGIONE VENETO					
	PROVINCE	PERIODO APPLICAZIONE WNV NAT TEST	N. DONAZIONI TESTATE WNV NAT	METODO	N. DONAZIONI WNV NAT POSITIVE RILEVATE
Test eseguiti dal DIMT di Belluno	Belluno	15.07.2012-30.11.2012	5.246	ROCHE test in mini pool	0
	Padova	15.07.2012-30.11.2012	2.384	ROCHE test in mini pool	0
	Rovigo	15.07.2012-30.11.2012	1.020	ROCHE test in mini pool	0
Test eseguiti dal DIMT di Venezia	Venezia	15.07.2012-30.11.2012	21.097	CHIRON test in singolo	11
	Verona	15.07.2012-30.11.2012	1.249	CHIRON test in singolo	0
Test eseguiti dal DIMT di Treviso	Treviso	15.07.2012-30.11.2012	20.705	ROCHE test in mini pool	3
	Vicenza	15.07.2012-30.11.2012	2.581	ROCHE test in mini pool	0
	Totale Regione Veneto	15.07.2012-30.11.2012	54.282		14

PIANO DI SORVEGLIANZA ENTOMOLOGICA E
MISURE DI LOTTA AI VETTORI
ANNO 2013



Caratteristiche del vettore della West Nile

La zanzara coinvolta nella trasmissione della West Nile è risultata essere *Culex pipiens*; specie molto diffusa negli ambienti urbanizzati che si è adattata negli anni all'evolversi delle nostre città, sfruttando qualsiasi raccolta d'acqua.

La specie è costituita in realtà da due sottospecie, *Cx. pipiens molestus* e *Cx. pipiens pipiens*, che costituiscono il così detto "complesso"; le due presentano numerose aree di sovrapposizione e non sono distinguibili morfologicamente. Per i diversi ambienti normalmente colonizzati la *Cx. pipiens molestus* è conosciuta come forma urbana mentre la seconda come forma rurale. Gli adulti possono essere distinti tramite tecniche biomolecolari o elettroforetiche. Entrambe le forme non si spostano a grandi distanze (da poche centinaia di metri ad un massimo di circa 3 km) e sono attive di preferenza al crepuscolo e di notte in prossimità delle aree di sviluppo larvale da cui provengono. Possono entrare nelle abitazioni attratte dalla luce e dalla presenza di persone rimanendo attive per tutta la notte. La forma rurale è soprattutto ornitofila (punge prevalentemente gli uccelli) mentre la *molestus* è antropofila (punge prevalentemente l'uomo). La *molestus* è in grado di accoppiarsi in ambienti ristretti (stenogamia) quali possono essere tombini o fognature, non necessita del pasto di sangue per deporre le uova dopo il periodo invernale (autogenia) e non entra in diapausa invernale (omodinamia) anche se generalmente non si nutre.

Per lo sviluppo larvale *Culex pipiens molestus* è in grado di sfruttare quasi ogni tipo di raccolta di acqua dolce, soprattutto quella con elevato carico organico presenti in fognature, caditoie stradali, fosse assorbenti, cisterne e canalizzazioni a cielo aperto, nonché una moltitudine di piccole raccolte di acqua che si formano all'interno di manufatti diversi, spesso condivise con *Aedes albopictus* (zanzara tigre). La forma ornitofila invece predilige acque più limpide con sostanza organica di origine vegetale e pertanto in ambienti fortemente urbanizzati non trova le condizioni favorevoli allo sviluppo. Durante i mesi estivi il ciclo di sviluppo può completarsi in meno di due settimane dando luogo a densità elevate di specie.

Caratteristiche del vettore della CHIKV e Dengue

Le specie di zanzare certamente coinvolte nella trasmissione del CHIKV e Dengue sono *Aedes albopictus* (conosciuta come "zanzara tigre" e in Italia) e *Aedes aegypti* (non presente nel nostro Paese).

La zanzara si infetta pungendo un soggetto in fase viremica, il virus si replica all'interno degli organi della zanzara e viene trasmesso all'uomo al momento della puntura.

A causa di differenze genetiche, le popolazioni di zanzare nelle diverse aree geografiche potrebbero comunque presentare una diversa efficienza di trasmissione del vettore.

La longevità della zanzara tigre è stimata intorno a 4 settimane e il tempo di replicazione del virus nella zanzara è di circa 5-7 giorni. Questi dati indicano la rapidità potenziale di sviluppo di una popolazione di zanzare potenzialmente infette.

La zanzara tigre punge l'uomo principalmente nelle prime ore del mattino e in quelle che precedono il tramonto, ma può attaccare anche in pieno giorno, nonché la notte, all'interno delle abitazioni.

Gli adulti sono esofili, ovvero riposano all'aperto, al riparo dal sole, tra la vegetazione bassa o l'erba alta.

In termini generali, nelle aree a clima temperato, oltre ai normali cicli riproduttivi primaverili ed estivi, le femmine depongono le uova, destinate a superare l'inverno generalmente a inizio autunno; tali uova cominciano a schiudersi, in relazione alle condizioni climatiche e alla latitudine, generalmente in tarda primavera. Nelle zone tropicali il ciclo continua durante tutto l'anno.

Scopi del monitoraggio entomologico

Il monitoraggio entomologico permette di raccogliere informazioni utili relative sia al vettore che all'epidemiologia della malattia. Gli obiettivi sono di individuare:

- quali specie di vettori, nel caso specifico, di zanzare, sono presenti nel territorio
- la densità del vettore
- i patogeni trasmessi nelle zanzare
- la distribuzione sul territorio del virus
- l'introduzione di un nuovo patogeno
- 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 e cercare eventualmente un sistema predittivo per l'individuazione delle aree più a rischio d'infezione nell'uomo.

Le specie presenti

Il Nord-Est conferma essere una delle aree con maggior variabilità di specie d'Italia considerando che su tutto il territorio nazionale risultano presenti in totale 65 specie (Severini et al. 2009, più *Ae. koreicus*). Tuttavia, nonostante la varietà di specie, più del 90% degli esemplari appartengono solo a tre specie: *Culex pipiens*, *Ochlerotatus caspius* ed *Aedes vexans*. Tra queste comunque, *Cx. pipiens*, il principale vettore 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 ed all'anno. Generalizzando, si può dire che *Cx. pipiens* presenta un picco verso fine giugno-primi di luglio.

Metodologia di monitoraggio

La sorveglianza del vettore del virus West Nile 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, ecc.
- aree con elevata presenza di uccelli; 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

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 una sacchettino di raccolta sottostante. Le trappole devono essere attivate tra le ore 17.00 e le ore 8.00 del giorno seguente. La frequenza di campionamento è 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 esemplari della stessa specie e mantenute a -80°C per la successiva ricerca dei virus.

La ricerca del virus nei vettori

La prima fase della ricerca del virus consiste nell'estrazione dell'RNA dai pool d'insetti.

Inizialmente viene effettuato uno screening per la ricerca di agenti virali appartenenti al genere Flavivirus con una retrotrascrizione in Real-Time PCR (RRT-PCR) in grado di evidenziare la presenza di vari Flavivirus (Yellow fever, Dengue, Japanese encephalitis, St. Louis encephalitis, Usutu virus), WNV compreso. Ogni campione positivo per la presenza di Flavivirus viene poi sottoposto all'analisi di sequenza. Nei casi in cui la sensibilità della RRT-PCR non risulti sufficiente per produrre ampliconi sequenziabili può essere usata una seminested-PCR, per aumentarne la sensibilità.

Il rilevamento del virus nelle zanzare avviene quindi in pool d'insetti (max 50 esemplari) e non in singole zanzare; per questo motivo si calcola un tasso d'infezione atteso (ERI) seguendo il metodo per campioni analizzati in pool proposto da Cowling et al. (1999) con la formula seguente:

$$\text{ERI (expected rate of infection)} = 1 - (1 - x/m)^{1/k}$$

dove x = pool positivi; m = pool esaminati e k = numero medio di zanzare per ogni pool

Anche se il WNV in Europa è stato evidenziato principalmente in zanzare del genere *Culex*, devono essere testate tutte le specie per poter mettere in evidenza la circolazione in altre specie di zanzara e anche di altri virus appartenenti al genere Flavivirus.

Indici di alto rischio di trasmissione umana

Possibili indici di un elevato rischio di casi umani sono:

- aumento di mortalità dovuta a WNV in uccelli (in particolare sinantropici)
- aumento casi clinici nei cavalli e/o aumento di allevamenti con cavalli sieropositivi (possibilmente a IgM)
- aumento del tasso di infezione nelle zanzare e della loro densità, riassumibile in un aumento del "vector index" (vedi capitolo dedicato)
- aumento di casi umani

Vector Index

Il Vector Index in pratica combina il tasso di infezione nelle zanzare con l'abbondanza delle stesse in quell'area (considerando le zanzare catturate nella trappola positiva e le altre trappole in un raggio stabilito, che varia a seconda dell'intensità del monitoraggio entomologico) nella stessa settimana di cattura.

Si calcola con la seguente formula:

$$VI = \sum N_i P_i$$

dove N = densità media del vettore nelle trappole attive in un raggio stabilito;

P = tasso di infezione stimato in ogni trappola (ERI)

i = specie di zanzare infette nel caso ci siano più vettori di WN in un'area

Non esiste un valore soglia del VI stabilito a priori e valido per ogni situazione epidemiologia.

I valori soglia al di sopra dei quali vi è un alto rischio di trasmissione umana variano a seconda delle situazioni e degli autori da 0.33 a 0.7. Dai risultati preliminari ottenuti nella stagione 2012, anno di massima trasmissione umana in Veneto dal 2008, il valore VI predittivo di rischio per l'uomo è stato ≥ 0.5 .

SORVEGLIANZA ENTOMOLOGICA PER I VETTORI CHIKUNGUNYA E DENGUE.

Sulla base dei risultati di progetti coordinati dal Ministero - CCM, si possono rappresentare, schematicamente, le seguenti aree di rischio per la sorveglianza entomologica:

Area A: area regionale in cui è presente il vettore, in assenza di casi importati o autoctoni.

Area B: area regionale in cui è presente il vettore e si verificano uno o più casi importati di Chikungunya/Dengue.

Area C: area regionale in cui è stata segnalata l'insorgenza di casi autoctoni isolati o raggruppati in "cluster".

Per le Aree di tipo A, sarà necessario effettuare la sorveglianza entomologica secondo quanto disposto e programmato dalle Autorità sanitarie competenti dei Dipartimenti di Prevenzione delle ASL e dalle Regioni. In base ai risultati annuali dell'attività pregressa di sorveglianza entomologica. Dovrà, inoltre, essere effettuato il monitoraggio con ovitrappole delle aree in cui è stata evidenziata la presenza dell'insetto vettore, e l'attività di disinfestazione con prodotti larvicidi come previsto dalle autorità sanitarie locali, competenti per territorio.

Per le Aree di tipo B e di tipo C, oltre alle attività previste per l'Area A, andrà valutata la densità relativa del vettore mediante l'impiego di trappole per adulti; inoltre andranno previste ed effettuate, anche attività di tipo "porta a porta" per la ricerca dei focolai larvali peri-domestici ed attività di disinfestazione con prodotti adulticidi, dell'area corrispondente al raggio pari a 100 metri dall'abitazione del caso confermato, in caso di focolaio epidemico. oltre alle attività di disinfestazione "porta a porta" l'area da disinfestare potrà essere estesa fino a 300 metri dai casi più periferici del focolaio stesso, oltre che interessare tutta l'area del focolaio. La programmazione operativa di tali indicazioni sarà valutata, disposta e modificata dal Dipartimento di Prevenzione della ASL competente, in base ai dati raccolti attraverso l'indagine epidemiologica.

MISURE PER IL CONTROLLO DELLE ZANZARE IN AMBITO URBANO (Zanzara comune e Zanzara tigre)

Lotta larvicida

Il controllo delle zanzare deve puntare ad un approccio integrato (Integrated Mosquito Management - IMM) nel quale la lotta larvicida riveste un ruolo fondamentale in quanto si utilizzano prodotti selettivi in superfici limitate.

Le larve di zanzara possono essere controllate sia con insetticidi che con altri sistemi come ad esempio la gestione delle acque e la riduzione dei focolai di sviluppo (miglioramento del drenaggio dei terreni, riempimento e spianatura delle aree soggette a sommersione, taglio periodico ed asportazione dell'erba dai fossati). Esistono dei controlli biologici che sono importanti per mantenere basso il numero delle zanzare; tuttavia i predatori naturali delle zanzare possono venire aumentati soltanto in situazioni specifiche per raggiungere un buon livello di controllo per contrastare la trasmissione del WNV. Nella stragrande maggioranza delle situazioni è necessario ricorrere all'impiego di insetticidi come ad esempio i regolatori di crescita (IGR) ed il *Bacillus thuringiensis israelensis*.

Elemento essenziale per applicare la lotta larvicida è la conoscenza delle diverse tipologie di focolaio utilizzate dalle principali specie moleste.

Sulla base dell'importanza rappresentata dalle specie *Culex pipiens* nella trasmissione del WNV, i principali focolai dove si possono riscontrare larve sono i seguenti:

Caditoie stradali

Le caditoie ai lati delle vie sono uno degli habitat preferenziali delle aree urbane e sub-urbane per *Culex pipiens* e. Anche se, considerata singolarmente, una caditoia è uno spazio piuttosto limitato, moltiplicato per il numero di caditoie nel contesto urbano essa rappresenta un'area di proliferazione vastissima e priva di predatori naturali.

I Regolatori di Crescita e il *Bacillus sphaericus* risultano essere i p.a. maggiormente raccomandati per il controllo delle larve garantendo un controllo prolungato fino a 4 settimane.

Contenitori artificiali:

Sono contenitori artificiali oggetti come pneumatici, secchi, abbeveratoi per uccelli, etc., che trattengono l'acqua piovana. A parte ogni altra considerazione di tipo igienico, essi costituiscono dei siti ideali per lo sviluppo delle zanzare di alcune specie grazie alla mancanza di predatori e si possono rivelare particolarmente produttivi se posti in un'area caratterizzata da una densa vegetazione.

I contenitori artificiali spesso si trovano in proprietà private. Qui, i siti principali di proliferazione sono costituiti da vecchi pneumatici abbandonati all'aperto, abbeveratoi per uccelli scarsamente curati, scoli piovani otturati, piscine o vasche in plastica non usate, pentole e padelle con acqua stagnante o pozzanghere che persistono per una settimana o più. Ogni proprietario di aree residenziali o commerciali dovrebbe ispezionare regolarmente la sua proprietà e gli edifici per determinare l'esistenza di condizioni favorevoli alla proliferazione di zanzare e dovrebbe sforzarsi di eliminare tali condizioni.

Fossati

I fossati, soprattutto quelli con elevata carica organica, ricchi di vegetazione e a lento deflusso rappresentano dei focolai importanti per lo sviluppo di *Culex pipiens*, per il controllo è opportuno intervenire con IGR, in presenza di pesce si consiglia l'impiego di *Bacillus thuringiensis var israelensis* e *Bacillus sphaericus*.



E' importante sottolineare che i contenitori artificiali e le caditoie stradali rappresentano dei focolai dove si sviluppa anche la zanzara tigre (*Aedes albopictus*) pertanto le azioni descritte risultano efficaci nei suoi confronti

Tabella 10 - Elenco delle sostanze attive utilizzabili come larvicida nei confronti di tutte le larve di zanzara.

Principio attivo	Classe chimica di appartenenza	Tossicità acuta	Modalità d'azione	Tipo di formulazione commerciale
DIFLUBENZURON	Regolatori di crescita degli Insetti (IGR) Antagonista dell'ormone della muta	DL50 acuta orale ratto: 4.640 mg/kg DL50 acuta dermale coniglio: > 2.000 mg/kg	Soprattutto per ingestione, inibisce la sintesi della chitina	Sospensione concentrata, compresse, granuli
PIRYPROXYFEN	Regolatori di crescita degli insetti (IGR)-Mimetico dell'ormone giovanile	DL50 acuta orale ratto: 5.000 mg/kg DL50 acuta dermale coniglio: >2.000 mg/kg	Per contatto e ingestione, azione ormonosimile, analogo dell'ormone giovanile (neotenia)	Granuli, compresse, Liquido Concentrato
S-METOPRENE	Regolatori di crescita degli insetti (IGR)-Mimetico dell'ormone giovanile	DL50 acuta orale ratto > 34.600 mg/kg	Per contatto e ingestione, azione ormonosimile, analogo dell'ormone giovanile (neotenia)	Compresse
BACILLUS THURINGIENSIS ISRAELENIS (BTI)	Batterio	DL50 acuta orale e dermica > 30.000 mg/kg (riferita al formulato Commerciale)	Per ingestione	Liquido, granuli, compresse, polvere bagnabile
BACILLUS SPHAERICUS	Batterio	DL50 >5000 mg/kg in ratto. Tossicità dermale DL50>2000 mg/kg in coniglio.	Per ingestione	Compresse

Lotta adulticida

Gli interventi adulticidi hanno lo scopo di abbassare drasticamente la densità di adulti di zanzara, ma occorre sempre tenere presente, come imprescindibili, i seguenti aspetti:

- l'effetto abbattente del trattamento, anche se condotto applicando la buona pratica, è di durata limitata nel tempo
- l'impatto ambientale di questi trattamenti è considerevole non esistendo prodotti ad azione selettiva sulle zanzare

Pur esistendo un numero elevatissimo di formulati insetticidi per il controllo delle zanzare adulte, in questa sede si ritiene opportuno ricordare che, a parità di principio attivo, è possibile avvalersi di formulati caratterizzati da tossicità molto contenuta. I prodotti devono essere formulati come sospensioni concentrate (Flowable) microemulsioni e macroemulsioni acquose ed emulsioni tradizionali ottenute tramite solventi a bassa tossicità (ad esempio di derivazione vegetale). Sono da evitarsi formulati contenenti solventi derivati dal petrolio in quanto presentano un profilo eco tossicologico decisamente peggiore rispetto alle nuove formulazioni.

Dall'esame della lista dei principi attivi insetticidi per i quali le società si sono impegnate a produrre i dossier di rivalutazione richiesti dalla Direttiva Biocidi emerge una futura disponibilità basata prevalentemente su alcuni piretroidi (Tabella 2).

Caratteristiche degli adulticidi impiegati

Per i trattamenti adulticidi sono necessari atomizzatori/nebulizzatori automontati (impiegati soprattutto per trattamenti sul suolo pubblico) o spalleggiati (consigliati per i fondi privati), in grado di produrre un particolato di volume basso (diametro delle particelle intorno ai 50-70 micron), medio-basso (particelle non superiori ai 100 micron) e grossolano (maggiore di 100 micron). L'impiego di particolato più fine, tipo ULV (volume ultra basso, diametro delle particelle < 20 micron) è inadatto, sia per via della "leggerezza" della nube di insetticida che si sposta in maniera incontrollabile alla minima brezza, sia perché questa tecnica e i formulati "ad hoc" non sono tutt'ora regolamentati in Italia, se non con rare eccezioni, il cui impiego è comunque limitato ad ambienti chiusi.

Ogni intervento deve essere preceduto da:

- **verifica diretta dello stato d'infestazione dell'area da sottoporre all'intervento**
- **individuazione dell'area da trattare e pianificazione del percorso dell'unità operativa**
- **informazione della popolazione in modo da prevenire e limitare l'esposizione durante l'irrorazione.**

Per questioni di sicurezza è opportuno che la cittadinanza venga avvisata per tempo dell'esecuzione dell'intervento adulticida, per poter prendere le necessarie precauzioni (chiudere le finestre, ritirare la biancheria, coprire negli orti le piante destinate al consumo umano, non lasciare soggiornare all'aperto durante l'applicazione gli animali e le persone, soprattutto bambini).

Qualora gli interventi di disinfestazione vengano eseguiti in parchi pubblici e giardini è opportuno interdire l'ingresso al pubblico fino al giorno successivo.



Tabella 11—Elenco delle principali sostanze attive utilizzabili come adulticida per il controllo delle zanzare in ambito professionale.

Principio attivo	Classe chimica di appartenenza	Tossicità ¹	Modalità d'azione	Proprietà sintetiche
d-Phenotrin	Piretroide	DL50 acuta orale ratto mg/kg > 10000 DL50 acuta dermale mg/kg > 10000	Per contatto	Fotolabile
Permetrina	Piretroide	DL50 acuta orale ratto mg/kg 430 - 4000 DL50 acuta dermale mg/kg > 4000 (coniglio)	Per contatto	Fotostabile
Deltametrina	Piretroide	DL50 acuta orale ratto mg/kg 135 - 5000 DL50 acuta dermale mg/kg > 2000 (ratto)	Per contatto	Fotostabile
Tetrametrina	Piretroide	DL50 acuta orale ratto mg/kg > 5000; DL50 acuta dermale mg/kg > >5000 (ratto)	Per contatto	Fotolabile
Cipermetrina	Piretroide	DL50 acuta orale ratto mg/kg -250 - 4150; DL50 acuta dermale mg/kg > 4920 (ratto)	Per contatto	Fotostabile ed irritante
Alfa-cipermetrina	Piretroide	DL50 acuta orale ratto mg/kg 79 - 400 DL50 acuta dermale mg/kg > 2000 (ratto)	Per contatto	Fotostabile
Piretro	Piretrine naturali	DL50 acuta orale ratto mg/kg 2370 DL50 acuta dermale mg/kg > 1500 (coniglio)	Per contatto	Fotolabile
Cifenotrin	Piretroide	DL50 acuta orale ratto mg/kg 318 DL50 acuta dermale mg/kg > 5000 (coniglio)	Per contatto	Fotostabile
Lambda-cialotrina	Piretroide	DL50 acuta orale ratto mg/kg 79 DL50 acuta dermale mg/kg > 632 - 696 (ratto)	Per contatto	Fotostabile
Etofenprox	Fenossiderivati	DL50 acuta orale ratto mg/kg >42.880 DL50 acuta dermale mg/kg > 2140 (ratto)	Per contatto	Fotostabile

¹ fonte dei dati "The Pesticide Manual" Twelfth Edition 2000



PROPOSTA DI DISCIPLINARE TECNICO PER L'ESPLETAMENTO DI GARE D'APPALTO PER SERVIZI DI LOTTA ALLE ZANZARE IN AREE PUBBLICHE (ZANZARA COMUNE E ZANZARA TIGRE)

La seguente proposta costituisce una traccia per la realizzazione di gare d'appalto per il controllo delle zanzare in ambito pubblico.

Lo schema logico che dovrebbe essere utilizzato per approntare un efficace programma di disinfestazione dovrebbe infatti prevedere prima di ogni altra cosa, in qualità di requisito irrinunciabile, la conoscenza del territorio e dei periodi in cui le azioni di lotta possono condurre ad un maggiore risultato.

Se non si programmano gli interventi basandosi su queste informazioni diviene oltremodo difficile raggiungere l'obiettivo dell'ottimizzazione dell'uso delle risorse.

OGGETTO DELL'APPALTO

Il presente appalto ha per oggetto i seguenti interventi:

Interventi programmati:

- interventi larvicidi nelle caditoie stradali in ambito comunale, in caditoie delle aree verdi e in caditoie di pertinenza di immobili comunali ed aree cimiteriali;
- interventi larvicidi nei fossati

Ai fini degli interventi programmati il committente dovrà fornire le schede con l'elenco delle aree da sottoporre ad intervento.

- le vie stradali, le aree verdi e gli edifici comunali ed il relativo numero di caditoie
- i chilometri di fossati che si intendono trattare.



E' importante porre particolare attenzione all'individuazione dei parcheggi e delle aree verdi, inserendoli nell'elenco delle zone da trattare. Per i fossati è opportuno indicare, oltre alla localizzazione, i chilometri di lunghezza. I fossati da considerare sono quelli a lento deflusso, ricchi di sostanza organica (inquinati), privi di ogni forma di vita (pesci) e fortemente inerbiti.

- *Interventi a richiesta:*
 - interventi adulticidi in aree pubbliche
 - interventi di disinfestazione in aree private
 - interventi per emergenze sanitarie



L'intervento nelle aree private risulta particolarmente utile per ridurre la presenza di zanzara tigre; rappresenta infatti un'opportunità per quei cittadini che si rivolgono al Comune per richiedere informazioni relativamente alle modalità di disinfestazione o per avere il nominativo di una ditta che esegua detti interventi. Disporre inoltre di una base di costo per un intervento larvo-adulticida in area privata permette di stimare l'impegno di spesa nel caso di situazioni di emergenza sanitaria.

E' bene sottolineare come l'intervento adulticida non debba essere programmato ad inizio stagione ma pianificato sulla base dell'andamento stagionale dell'infestazione con azioni mirate e di breve durata.

TIPOLOGIA DI INTERVENTO RICHIESTO

Le azioni di lotta devono essere improntate alla massima sicurezza della popolazione, degli operatori e dell'ambiente. Per tali ragioni nella lotta alle zanzare verranno privilegiati gli interventi larvicidi.

Le diverse tipologie di interventi da eseguire nelle aree interessate risultano essere quelli sotto riportati.

Interventi programmati

- Interventi larvicidi nelle caditoie stradali in ambito comunale, in caditoie delle aree verdi e in caditoie di pertinenza di immobili comunali
- Interventi larvicidi nei fossati

I relativi focolai di sviluppo oggetto di trattamento verranno indicati nelle schede che saranno allegate all'appalto.

Interventi a richiesta

a) Interventi adulticidi

Per gli interventi adulticidi nei confronti delle zanzare, verrà considerato il costo orario.

b) Interventi di disinfestazione in aree private.

Gli interventi verranno richiesti dal cittadino alla Ditta aggiudicataria direttamente o attraverso il Committente. Il costo di tali interventi sarà a totale carico del cittadino richiedente e la relativa somma verrà corrisposta direttamente dal cittadino alla ditta aggiudicataria del servizio secondo le tariffe concordate.

c) Interventi per emergenza sanitaria.

La ditta dovrà eseguire interventi di disinfestazione nei confronti delle zanzare nel caso vi fossero delle situazioni di emergenza sanitaria (Chikungunya, Dengue, West Nile ...). Gli interventi dovranno essere effettuati secondo le indicazioni previste nei protocolli operativi approvati dalle autorità competenti (Istituto Superiore di Sanità, Regione Veneto).

PRODOTTI DA UTILIZZARE

Gli interventi devono essere eseguiti nel rispetto della legislazione vigente, garantendo il minimo impatto ambientale.

Nell'utilizzo dei prodotti dovranno essere rispettate le indicazioni del competente Ministero per il loro impiego e commercializzazione, riportate nella scheda tecnica; in nessun caso si dovrà derogare a tali indicazioni e a quelle riportate nell'etichetta dei prodotti.

Tutti i prodotti impiegati dovranno essere registrati come presidi medico-chirurgici o biocidi.

Per l'impiego dei formulati ci si dovrà attenere a quanto riportato dalla scheda tecnica registrata presso il competente Ministero.

Per la lotta larvicida dovrà essere utilizzato per i tombini e fossati un formulato commerciale a base di pyriproxyfen o diflubenzuron con una persistenza d'azione dichiarata di almeno 3-4 settimane.

In alcune situazioni potranno essere impiegati formulati a base di batteri sporigeni. Potrà essere richiesta alla Ditta di fornire documentazione che attesti l'effettiva efficacia e persistenza d'azione del biocida proposto nelle condizioni di campo.

Per la lotta adulticida dovranno essere utilizzati biocidi privi di solventi (base acqua) contenenti associazioni di piretroidi.

I prodotti per i quali si prevede l'utilizzo dovranno riportare in etichetta la possibilità di utilizzo anche per il trattamento del verde ornamentale.

Non sono ammessi formulati che presentino nella composizione (desunta dalle sez. 2 e 16 della "Scheda Dati di Sicurezza") coformulanti classificati con la frase di rischio:

R40 ("Possibilità di effetti irreversibili");

R45 ("Può provocare il cancro");

R49 ("Può provocare il cancro per inalazione" accompagnata dal simbolo T+ (teschio);

R61 ("Può danneggiare i bambini non ancora nati");

R63 ("Possibile rischio di danni ai bambini non ancora nati").

Per le gli interventi nel caso di emergenze sanitarie dovranno essere applicati i biocidi indicati nei piani di intervento specifici.

Di tutti i prodotti che la Ditta intenderà impiegare dovrà allegare:

Schede tecniche

Schede di sicurezza

Con riferimento alla possibilità che nel corso della durata del presente appalto uno o più presidi medico chirurgici, attualmente registrati e utilizzabili, vedano decadere la propria registrazione per effetto del Regolamento Biocidi, sarà cura della Ditta esecutrice del servizio proporre la sostituzione dei presidi decaduti con:

- un prodotto biocida caratterizzato dalla medesima composizione e tipologia di formulazione del presidio medico chirurgico decaduto e nella cui etichetta sia citato un chiaro riferimento (oggetto bersaglio e ambito di applicazione) allo specifico impiego a cui era destinato il presidio medico chirurgico decaduto;

- un prodotto biocida caratterizzato da una composizione analoga e identica tipologia di formulazione del presidio medico chirurgico decaduto. Anche in questo caso l'etichetta del biocida deve prevedere la possibilità di uno specifico impiego del tutto sovrapponibile a quello a cui era destinato il presidio medico chirurgico decaduto.

Anche in questo caso l'etichetta del biocida deve prevedere la possibilità di uno specifico impiego del tutto sovrapponibile a quello a cui era destinato il presidio medico chirurgico decaduto.

LIVELLO DI INTERVENTO

Il livello di intervento corrisponde al numero ed alla stagionalità degli interventi.

Per la lotta larvicida, gli interventi dovranno essere eseguiti periodicamente con cadenza (intervallo di tempo tra l'inizio di un intervento e l'inizio dell'intervento successivo) indicativa di 3-4 settimane in tutte le caditoie indicate. Nei fossati la cadenza di intervento è invece di 15 giorni.

Indicativamente i trattamenti dovranno essere eseguiti nel periodo aprile – ottobre di ciascun anno solare, salvo diverse indicazioni da parte del Committente.

Si prevedono nell'arco dell'anno 6 interventi larvicidi nelle caditoie e 8 nei fossati con possibilità di effettuarne altri in presenza di andamento prolungato della stagione

Per la lotta adulticida il livello minimo della richiesta corrisponde a n. 1 interventi eseguiti entro 48 ore dalla data indicata nella richiesta, se non diversamente specificato, redatta direttamente dal Committente mediante scheda.

Gli interventi nel caso di emergenze sanitarie dovranno essere evasi entro 24 ore dal ricevimento della comunicazione da parte del Committente ove diversamente specificato, salvo diverse indicazioni.

MODALITA' DI INTERVENTO

Prima di ogni intervento di disinfestazione larvicida l'operatore della ditta aggiudicataria dovrà contattare il Committente. L'attività espletata dalla ditta aggiudicataria dovrà risultare da una scheda di servizio giornaliera da consegnare al Committente stesso, entro 48 ore dal termine di ogni trattamento a conferma dell'avvenuta effettuazione del servizio.

La scheda di servizio giornaliera dovrà contenere le seguenti informazioni:

- Intestazione indicante i dati della ditta appaltatrice
- Aree trattate
- Tipologia di servizio svolto
- Numero di intervento programmato
- Prodotti impiegati e loro quantità
- Modalità di applicazione (mezzi e/o attrezzature usate)
- Data di esecuzione del servizio
- Operatori coinvolti
- Tempo impiegato
- Firma dell'operatore

Ulteriori contenuti potranno essere inseriti qualora se ne ravvisi la necessità.

Tutte le variazioni riguardanti il calendario degli interventi dovranno sempre essere preventivamente concordate con il Committente.

Per i trattamenti nelle caditoie:

- si richiedono idonee attrezzature quali pompe a pressione di tipo portatile per la distribuzione di formulati larvicidi liquidi o attrezzature idonee alla distribuzione di formulati granulari.
- si precisa che, in riferimento all'attrezzatura idonea, nel trattamento delle caditoie a "bocca di lupo" l'operatore deve assicurare il raggiungimento dell'acqua da parte del formulato alle dosi prestabilite.

Prima di ogni intervento di disinfestazione adulticida, l'operatore della ditta dovrà contattare il Committente.

Gli interventi verranno richiesti direttamente dal Committente mediante invio di una richiesta a mezzo fax e/o mail alla Ditta.

In ogni ciclo di intervento la Ditta dovrà impiegare un numero di operatori in grado di garantire la copertura del territorio nel tempo stabilito. Come parametro di valutazione viene considerato uno standard medio di 800 caditoie/operatore/giorno. Pertanto il numero degli operatori dovrà essere calcolato sulla base del numero di caditoie presenti nella scheda allegata ed adeguato qualora, durante la vigenza contrattuale, vi fosse un incremento dei Comuni aderenti.

Alla presentazione del calendario la ditta dovrà indicare il personale impiegato per l'attività larvicida con il relativo recapito telefonico considerando il rapporto tra operatori e il numero di caditoie/operatore giorno presente nell'articolo.

Ogni trattamento larvicida dovrà essere oggetto di georeferenziazione dei percorsi effettuati e delle aree trattate.

Tutte le situazioni che ostacolano il normale svolgimento del lavoro vanno segnalate tempestivamente al Committente, così come vanno segnalati tutti i casi in cui si accerta un consistente scostamento, in positivo o in negativo, nel numero dei tombini presenti rispetto a quelli previsti.

Le caditoie con auto parcheggiate sopra vanno trattate cercando comunque di raggiungere il focolaio utilizzando la formulazione di insetticida e la tecnica di applicazione più appropriata, qualora la caditoia non sia raggiungibile si dovrà comunicare al termine del ciclo di intervento il numero di caditoie non trattate per via, qualora la % di caditoie non trattate per via superi il 10% la ditta dovrà comunque organizzarsi per trattare le caditoie saltate.

I trattamenti dei fossati dovranno avvenire con le stesse modalità operative descritte per le caditoie con le differenze sotto riportate:

- le attrezzature impiegate per la distribuzione della soluzione insetticida dovranno essere in grado di raggiungere l'acqua anche in presenza di forte vegetazione e difficile accessibilità con il mezzo;
- prima di trattare il fossato è necessario verificare la presenza di acqua e di infestazione larvale attraverso il campionamento in più punti distanti tra loro circa 50 m;
- il fossato trattato dovrà essere marcato con il GPS.

Gli interventi adulticidi dovranno essere effettuati con modalità diverse in considerazione del target interessato.

Aedes albopictus (zanzara tigre)

- gli interventi devono riguardare per lo più aree confinate, sono da evitare applicazioni sul fronte strada che determinano la distribuzione non controllata della soluzione insetticida con scarsi risultati;
- nelle applicazioni all'interno delle aree confinate è necessario garantire un'adeguata ed uniforme bagnatura della vegetazione. L'intervento con solo atomizzatore senza l'ausilio di lancia mitra riduce la durata dell'intervento;
- è opportuno utilizzare un particolato grossolano (100-200 micron) in quanto il trattamento deve essere "bagnante";
- è opportuno l'impiego di sistemi che garantiscano una maggiore copertura della vegetazione anche nella parte retrostante, così di amplificare l'azione irritante dei piretroidi, che se non distribuiti uniformemente non sono in grado di garantire un'efficacia duratura nel tempo;
- si consiglia l'impiego di formulati caratterizzati da una buona attività residuale.

Culex pipiens (zanzara comune)

Gli interventi adulticidi nei confronti di queste specie devono prevedere:

- l'utilizzo di un particolato più fine rispetto a quanto previsto per la zanzara tigre (30 – 60 micron) allo scopo di intercettare con maggiore efficacia gli adulti;
- l'utilizzo di formulati ad azione prevalentemente abbattente;
- l'impiego di soli atomizzatori;
- applicazioni in aree localizzate in periferia dei centri urbani e comunque in aree aperte.

L'operatore nel corso dell'intervento dovrà seguire le seguenti precauzioni:

- evitare di applicare la soluzione insetticida su orti e piante destinate al consumo umano;
- evitare di applicare l'insetticida in prossimità di vasche contenenti pesci;

- porre attenzione, soprattutto nel trattamento di siepi rivolte al fronte strada o confinanti con altre abitazioni al fine di evitare l'irrorazione accidentale a persone e/o animali.

Per il servizio adulticida si richiede inoltre che la Ditta abbia la disponibilità di attrezzature da impiegarsi nel trattamento di situazioni che richiedono il trattamento a piedi in spazi di limitata estensione e/o impossibili da raggiungere col nebulizzatore sull'automezzo.

Ogni trattamento effettuato dovrà essere oggetto di georeferenziazione dei percorsi effettuati e delle aree trattate.

VALUTAZIONE DELL'EFFICIENZA DELLA DITTA E DELLA CONGRUITÀ ED EFFICACIA DEI TRATTAMENTI

Il Committente verificherà la presenza della Ditta e l'effettuazione dei trattamenti nei giorni, nelle ore e nei luoghi dichiarati nelle schede di lavoro.

Nel corso della stagione verranno eseguiti dei campionamenti sulle acque superficiali di scoli, fossi, fossati, caditoie stradali allo scopo di valutare l'efficacia dell'intervento; tale attività rientra all'interno delle Competenze previste a carico delle ULSS nell'ambito del loro piano di vigilanza.

Il Committente, a propria discrezione, effettuerà sopralluoghi al fine di verificare l'efficienza dei servizi resi, l'adempimento degli obblighi del presente capitolato nonché il rispetto del programma giornaliero e la veridicità dei report che la Ditta aggiudicataria è tenuta a produrre. Sulla base dei rapporti informativi dei suoi delegati, dei tecnici e operatori incaricati esterni, il Committente, nel caso di rilevate mancanze e/o inadempienze nell'espletamento dei servizi, applicherà le penali nella misura e secondo i criteri indicati nel presente disciplinare e/o potrà redigere specifiche prescrizioni per il corretto svolgimento della attività a contratto.

La mancata trasmissione dei reports di esecuzione dei lavori sia periodici che a richiesta, equivale al non adempimento dell'intervento programmato con conseguente determinazione della penale prevista per l'inadempienza e la non liquidazione economica dei trattamenti stessi.

Ai campionamenti, potranno partecipare dei rappresentanti delegati dalla Ditta aggiudicataria.



METODI DI STIMA DELL'EFFICACIA DEI PRODOTTI ANTILARVALI APPLICATI PER IL CONTROLLO DELLE ZANZARE

Metodo per la stima dell'efficacia dei prodotti antilarvali a base del regolatore di crescita pyriproxyfen e methoprene nelle caditoie stradali e fossati.

Le verifiche di efficacia vanno programmate a partire dal 5° giorno dall'applicazione del prodotto.

Il pyriproxyfen ed il metoprene sono delle molecole insetticide regolatrici della crescita in quanto agiscono imitando la funzione dell'ormone giovanile, la neotenina, generando uno squilibrio tra la concentrazione dell'ormone della muta (ecdisione) e l'ormone giovanile.

Risultato dello squilibrio è l'impossibilità da parte dell'insetto di giungere al regolare completamento del proprio ciclo biologico.

In pratica le larve di zanzara, giunte allo stadio di pupa vanno incontro a morte o allo sfarfallamento di individui adulti destinati a morire nell'arco di breve tempo.

Il particolare meccanismo d'azione dei biocidi che imitano la funzione dell'ormone giovanile richiede che per verificare la corretta applicazione del prodotto vengano effettuati, nei focolai di sviluppo larvale trattati (tombini, caditoie, altri ristagni) specifici campionamenti per raccogliere alcune delle larve di zanzara in sviluppo.

Ogni caditoia va campionata tre volte impiegando un contenitore dalla capacità di 500 cc.

Il numero di larve e pupe raccolte nelle tre pescate può variare in media tra le 10 e le 30, è preferibile raccogliere larve di terzo o quarto stadio (oltre alle pupe).

Larve e pupe andranno posizionate in contenitori trasparenti in plastica o vetro da 100 – 150 ml, e mantenuti nella medesima acqua prelevata dal tombino. Il contenitore sarà ricoperto con una sottile garza tenu-

ta in sede da un elastico e conservato all'ombra in un locale con temperatura ed umidità controllata (24°C e 55% di UR). Il trasporto dei contenitori dal luogo del prelievo al locale di conservazione deve avvenire all'interno di un contenitore termicamente isolato.

Ad ogni contenitore sarà associato un codice di identificazione che permetta di risalire alla data e al luogo del campionamento, analogamente per ogni contenitore sarà registrato l'esatto numero di larve e pupe inizialmente collocate.

I contenitori saranno esaminati a intervalli di 24 – 48 ore per registrare:

- il numero di pupe morte
- il numero di larve morte
- il numero di adulti sfarfallati

Le osservazioni continueranno sino all'esaurimento delle larve e pupe vitali.

E' importante segnalare che il particolare meccanismo d'azione degli analoghi dell'ormone giovanile determina la continua presenza di larve e pupe nei focolai trattati.

Quando si esegue un rilievo post trattamento in un focolaio ove si suppone sia stato impiegato un prodotto analogo dell'ormone giovanile (piriproxyfen o metoprene), il mancato rinvenimento di stadi giovanili di zanzara può essere dovuto a:

- assenza di larve già prima del trattamento;
- applicazione di un IGR con differente principio attivo (diflubenzuron).

Applicazione di una miscela inquinata da altro principio attivo (piretroidi).

E' da ricordare come l'applicazione di piretroidi in acqua determini la morte di tutti gli stadi larvali a poche ore dal trattamento, pertanto se dopo 24 – 48 dal trattamento osserviamo larve e pupe morte, con molta probabilità è stato utilizzato un prodotto appartenente a questa famiglia di insetticidi.

Metodo per la stima dell'efficacia dei prodotti antilarvali a base del regolatore di crescita diflubenzuron nelle caditoie stradali e fossati.

Le verifiche di efficacia vanno programmate a partire dal 5° giorno dall'applicazione del prodotto

Il diflubenzuron è un inibitore della sintesi della chitina ed interferisce nei meccanismi biochimici della produzione della chitina che rappresenta uno dei principali componenti dell'esoscheletro degli insetti.

Il risultato è che l'insetto non essendo in grado di mutare va incontro a morte .

Il particolare meccanismo d'azione dei biocidi basati sul diflubenzuron richiede che per verificare la corretta applicazione del prodotto vengano effettuati, nei focolai di sviluppo larvale trattati (tombini, caditoie, altri ristagni) specifici campionamenti per raccogliere alcune delle larve di zanzara in sviluppo.

Ogni caditoia va campionata tre volte impiegando un contenitore dalla capacità di 500 cc.

Il numero di larve raccolte può variare in media tra le 10 e le 30, è preferibile raccogliere larve di terzo o quarto stadio.

Le larve andranno posizionate in contenitori trasparenti in plastica o vetro da 100 – 150 ml, e mantenuti nella medesima acqua prelevata dal tombino. Il contenitore sarà ricoperto con una sottile garza tenuta in sede da un elastico e conservato all'ombra in un locale a temperatura non inferiore ai 20°C e non superiore ai 26°C . Il trasporto dei contenitori dal luogo del prelievo al locale di conservazione deve avvenire all'interno di un contenitore termicamente isolato.

Ad ogni contenitore sarà associato un codice di identificazione che permetta di risalire alla data e al luogo del campionamento, analogamente per ogni contenitore sarà registrato l'esatto numero di larve inizialmente collocate.

I contenitori saranno esaminati a intervalli di 24 – 48 ore per registrare:

- il numero di larve morte





Il particolare meccanismo d'azione del diflubenzuron non dovrebbe portare alla formazione di pupe. E' importante sottolineare come l'azione del Diflubenzuron all'atto pratico sia diversa rispetto a quanto riportato nel pyriproxyfen in quanto la sua azione si manifesta già nei primissimi stadi e pertanto se il formulato è stato applicato correttamente non dovremmo trovare alcun stadio larvale nelle caditoie, tantomeno pupe.

Qualora nel corso dei campionamenti si riscontri la presenza di larve e pupe si procede come descritto al prelievo dei campioni.

Tutte le verifiche dei biocidi contenenti IGR vanno programmate dopo 4/5 giorni dall'applicazione del prodotto.

Metodo per la stima dell'efficacia dei prodotti antilarvali a base di Batteri sporigeni *Bacillus thuringiensis var. israelensis (Bti)* e *Bacillus sphaericus* nelle caditoie stradali e fossati.

Le verifiche di efficacia vanno programmate a partire dopo 48 ore dall'applicazione del prodotto

I batteri sporigeni sono degli insetticidi microbiologici la cui azione tossica si manifesta per ingestione. Quando le larve ingeriscono le spore si liberano delle tossine che provocano paralisi degli apparati boccali e digerenti con morte entro le 24 ore dall'applicazione.

Ogni caditoia va campionata tre volte impiegando un contenitore dalla capacità di 500 cc.

Le verifiche per i focolai trattati con batteri sporigeni vanno eseguite entro 48 ore dall'applicazione del prodotto osservando direttamente la presenza o meno di larve vitali all'interno di una vaschetta con fondo bianco.

Nei fossati la metodologia descritta per le diverse categorie di larvicidi è la stessa, la differenza sta nel numero di campioni da effettuare che dovranno essere rappresentativi del focolaio considerato; si consiglia di effettuare almeno tre pescate con dipper ad una distanza di 1 metro una dall'altra considerando fossati con una lunghezza di alcuni metri.

Su fossati più lunghi le pescate vanno quantificate sulla base della lunghezza del focolaio in modo da avere un campionamento uniforme.

E' opportuno tenere in considerazione la presenza di scarichi in corrispondenza dei quali è opportuno effettuare supplementari rilievi.



Parametri per la valutazione dell'efficacia di intervento antilarvale

Ai fini della valutazione dell'efficacia il parametro di riferimento da considerare è la % di sfarfallamento per ogni campione raccolto o la % di caditoie trattate qualora non siano necessari prelievi di larve (nel caso si utilizzino Batteri sporigeni). Un intervento è efficace se tali percentuali risultano inferiori o uguali al 20%.

Metodologia per la valutazione dell'efficacia degli interventi adulticidi

Le verifiche sull'efficacia della lotta antilarvale hanno raggiunto un discreto grado di diffusione. Esse permettono di valutare, con buona approssimazione, la reale persistenza d'azione dei formulati antilarvali nelle condizioni di campo applicando protocolli oramai condivisi e molto spesso ben descritti anche all'interno dei capitolati tecnici d'appalto.

La presenza delle zanzare adulte viene determinata mediante l'impiego di trappole a CO₂ per *Culex pipiens* e *Ochlerotatus caspius* o del tipo BG Sentinel per *Aedes albopictus* (o mediante la tecnica dell'uomo esca).

Qualora le aree interessate siano infestate da zanzara tigre (parco pubblico, scuole, ospedali) per valutare il livello di infestazione si utilizza la tecnica dell'uomo esca (Human Landing - HL); questa metodologia consiste nell'esporre parti del corpo scoperte, braccia e/o gambe, e catturare con un aspiratore le zanzare che vi si poggiano prima che abbiano la possibilità di pungere. Si effettuano campionamenti, 24 ore prima dell'intervento, in più punti dell'area interessata, nelle ore a maggior attività della zanzara tigre, tarda mattinata o tardo pomeriggio. La stessa procedura si ripete 24 ore dopo il trattamento.

Qualora si voglia valutare anche la persistenza dell'intervento effettuato, le verifiche vanno effettuate con cadenza settimanale, considerando il giorno del trattamento come punto di partenza per il calcolo.

In alternativa è possibile utilizzare le trappole BG sentinella.

Qualora gli interventi siano pianificati nei confronti della zanzara comune si utilizzeranno per il monitoraggio le trappole del tipo "CDC-CO₂", in questo caso l'area di monitoraggio sarà più ampia rispetto a quella considerata per la zanzara tigre.

I monitoraggi verranno effettuati 24 ore prima dell'intervento e a 24 ore dal trattamento, monitoraggi successivi non hanno senso.

Le zanzare campionate con la trappola CDC vanno contate e classificate.

La valutazione dell'efficacia verrà calcolata attraverso la seguente formula:

$$\% \text{ di riduzione} = (C-T/C) \times 100$$

C: n° di zanzare catturate nell'area controllo

T: n° di zanzare catturate dopo il trattamento nell'area trattata

Il dato che risulterà rappresenta la % di riduzione delle zanzare a seguito dell'intervento di disinfestazione adulta.



MISURE DI CONTROLLO DEL VETTORE IN CASO DI EMERGENZA

Si riporta nella seguente tabella lo schema da seguire per attivare un piano di intervento per il controllo della zanzara tigre:

Tabella 12 Attività di controllo del vettore in caso di outbreak da West-Nile

Riscontri di WNV nell'anno in corso	Riscontri di WNV nell'anno precedente	Azione larvicida	Azione adulticida
Nessuna evidenza di circolazione virale	Nessuna evidenza di circolazione virale	Lotta larvicida	Non consigliata
Nessuna evidenza di circolazione virale	Evidenza di circolazione virale	Lotta larvicida	Non consigliata
Evidenza di circolazione virale nelle zanzare o in animali (uccelli, cavalli)	Virus trovato o non trovato	Trattare focolai larvali presenti attorno il sito ove è stata riscontrata	Trattare con adulticida un'area di 3 Km solo se è alto il rischio di trasmissione umana sulla base di indici epidemiologici condivisi ⁽¹⁾
Caso umano (individuazione sito di esposizione più probabile)	Virus trovato o non trovato	Trattare focolai larvali presenti attorno il sito ove è stata riscontrata	Trattare con adulticida un'area di 3 km. ⁽²⁾ attorno al sito di avvenuta esposizione. Attenta valutazione del contesto dove si interviene Area urbana: privilegiare le aree a maggior aggregazione (scuole, parchi pubblici, cimiteri) Area rurale: sconsigliato l'intervento adulticida su grande scala.
Presenza di più casi umani (cluster) e/o ripetuti indicatori di alto rischio ⁽¹⁾	Virus trovato o non trovato	Trattare diffusamente con larvicida nei siti larvali	Trattare con adulticida zone di 3 km che possono essere adiacenti o sovrapposte in parte Area urbana: privilegiare le aree a maggior aggregazione (scuole, parchi pubblici, cimiteri) Area rurale: sconsigliato l'intervento adulticida su grande scala. Supporto finanziario DGR 2206 del 6.11.2012

⁽¹⁾: indici di alto rischio di trasmissione umana: vector index ≥ 0.5, aumento di mortalità negli uccelli e mammiferi (cavalli)

⁽²⁾: questo intervento ha lo scopo di proteggere la popolazione umana dal contagio. Le autorità sanitarie possono decidere di variare il raggio di intervento sulla base delle caratteristiche della popolazione da difendere, ad es. il raggio di azione può essere diminuito in un piccolo centro urbano o aumentato in caso di alto rischio di trasmissione in area densamente popolata. Vedi (1)

Tabella13 -Attività di controllo del vettore in caso di outbreak di Dengue e/o Chikungunya

T 0	Segnalazione del caso. Sopralluogo, identificazione dell'area, studio del territorio e inizio degli interventi porta a porta			
	Adulticida		Larvicida	Ispezione e porta a porta
	Spaziale	Verde		
T+1gg inizio trattamenti insetticidi e ispezioni accurate. Attivazione dei sistemi di monitoraggio	2 trattamenti (Mattino e sera)	X	X	X
T+2gg Gli interventi continuano seguendo lo schema del giorno precedente	2 Mattino e sera			X
T+3gg Ultimo ciclo trattamenti giornalieri. Raccolta dati del monitoraggio	1 Mattutino			X
T+4gg Estensione del monitoraggio alle aree confinanti				
T+11gg Ispezione porta a porta a campione. 2° ciclo di trattamenti: cadenza settimanale	1 Mattutino	X	X	X
T +18gg	1 Mattutino	X	X	X
<p>Il proseguimento delle attività di controllo dopo il diciottesimo giorno sarà determinato settimanalmente dai risultati delle ispezioni e del monitoraggio. Nel termine ispezioni rientrano il controllo dei focolai sul suolo pubblico trattati con larvicidi, il controllo a campione di un numero rappresentativo di abitazioni nell'area interessata per la ricerca di focolai rimovibili, la manutenzione e la raccolta dei campioni dalle trappole.</p>				



Oggetto: ordinanza sindacale contingibile ed urgente per la prevenzione ed il controllo delle malattie trasmesse da insetti vettori: caso umano accertato di "West Nile Disease".

IL SINDACO

Vista la segnalazione pervenuta in data _____ prot. ____ dell'Azienda ULSS , Dipartimento di Prevenzione, che comunica la presenza di un caso di _____: come da positività sierologica diagnosticata dal Laboratorio Regionale di Padova a carico di un residente di _____

Visto che nella nota sopra citata si propone l'adozione di un provvedimento contingibile ed urgente affinché siano aumentate le norme comportamenti di prevenzione e replicazione degli insetti vettori e venga garantita l'accessibilità alle aree private per gli interventi di disinfestazione necessari;

Considerato che, fatti salvi gli interventi di competenza dell'Azienda Sanitaria relativi alla sorveglianza ed al controllo dei casi accertati o sospetti di malattie trasmesse da insetti vettori, l'intervento principale per la prevenzione di queste malattie è la massima riduzione possibile della popolazione di tali insetti rafforzando la lotta preventiva e agendo principalmente con la rimozione dei focolai larvali e con adeguati trattamenti larvicidi;

Vista la necessità di intervenire a tutela della salute e dell'igiene pubblica per prevenire e controllare malattie infettive trasmissibili all'uomo attraverso la puntura d'insetti vettori;

Considerata la necessità di provvedere a un'adeguata pubblicizzazione del presente provvedimento, mediante forme di comunicazione rivolte ai soggetti pubblici e privati, ai cittadini ed alla popolazione presente sul territorio comunale.

Ordina

Ai soggetti gestori, responsabili o che ne abbiano l'effettiva disponibilità di aree strutturate con sistemi di raccolta delle acque meteoriche (privati cittadini, amministratori condominiali, società che gestiscono le aree di centri commerciali, ecc.) di:

- evitare l'abbandono definitivo o temporaneo negli spazi aperti pubblici e privati, compresi terrazzi, balconi e lastrici solari, di contenitori di qualsiasi natura e dimensione nei quali possa raccogliersi acqua piovana ed evitare qualsiasi raccolta d'acqua stagnante anche temporanea;
- procedere, ove si tratti di contenitori non abbandonati bensì sotto il controllo di chi ne ha la proprietà o l'uso effettivo, allo svuotamento dell'eventuale acqua in essi contenuta e alla loro sistemazione in modo da evitare accumuli idrici a seguito di pioggia; diversamente, procedere alla loro chiusura mediante rete zanzariera o coperchio a tenuta o allo svuotamento settimanale sul terreno, evitando l'immissione dell'acqua nei tombini;
- trattare l'acqua presente in tombini, griglie di scarico, pozzetti di raccolta delle acque meteoriche, presenti negli spazi di proprietà privata, ricorrendo a prodotti di sicura efficacia larvicida. La periodicità dei trattamenti deve essere congruente alla tipologia del prodotto usato, secondo le indicazioni riportate in etichetta; indipendentemente dalla periodicità, il trattamento deve essere ripetuto

to dopo ogni pioggia;

- tenere sgombri i cortili e le aree aperte da erbacce da sterpi e rifiuti di ogni genere, e sistemarli in modo da evitare il ristagno delle acque meteoriche o di qualsiasi altra provenienza;
- provvedere nei cortili e nei terreni scoperti dei centri abitati, e nelle aree ad essi confinanti incolte od improduttive, al taglio periodico dell'erba onde non favorire l'annidamento di adulti di zanzara;
- svuotare le piscine non in esercizio e le fontane o eseguirvi adeguati trattamenti larvicidi;
- mantenere le aree libere da sterpaglie, rifiuti o altri materiali che possano favorire il formarsi di raccolte d'acqua stagnanti;
- eseguire l'annaffiatura diretta di orti e giardini, tramite pompa o con contenitore da riempire di volta in volta e da svuotare completamente dopo l'uso;
- sistemare tutti i contenitori e altri materiali (es. teli di plastica) in modo da evitare la formazione di raccolte d'acqua in caso di pioggia;
- chiudere appropriatamente e stabilmente con coperchi a tenuta gli eventuali serbatoi d'acqua.
- adottare tutti i provvedimenti efficaci a evitare che i materiali permettano il formarsi di raccolte d'acqua, quali a esempio lo stoccaggio dei materiali al coperto, oppure la loro sistemazione all'aperto ma con copertura tramite telo impermeabile fissato e ben teso onde impedire raccolte d'acqua in pieghe e avvallamenti, oppure svuotamento delle raccolte idriche dopo ogni pioggia;
- stoccare i copertoni, dopo averli svuotati di eventuali raccolte d'acqua al loro interno, al coperto o in containers dotati di coperchio o se all'aperto, proteggerli con teli impermeabili in modo tale da evitare raccolte d'acqua sui teli stessi;

Avverte che

L'inosservanza delle disposizioni contenute nel provvedimento adottato comporta l'applicazione dell'art 650 c.p.

Dispone

che all'esecuzione, alla vigilanza sull'osservanza delle disposizioni della presente ordinanza, all'accertamento ed all'irrogazione delle sanzioni provvedano, per quanto di competenza, _____, nonché ogni altro agente od ufficiale di polizia giudiziaria a ciò abilitato dalle disposizioni vigenti;

Oggetto: ordinanza sindacale contingibile ed urgente controllo delle malattie trasmesse da insetti vettori: caso umano accertato di Dengue / Chikungunya residente a

Intervento di disinfestazione nelle vie quartiere località.....

IL SINDACO

Vista la segnalazione pervenuta in data _____ prot. ____ dell'Azienda ULSS , Dipartimento di Prevenzione /Servizio Igiene Pubblica, che comunica la presenza di un caso di _____: come da positività sierologica diagnosticata dal Laboratorio Regionale di Padova a carico di un residente di _____

Visto che nella nota sopra citata si propone l'adozione di un provvedimento contingibile ed urgente affinché siano aumentate le norme comportamenti di prevenzione e replicazione degli insetti vettori e venga garantita l'accessibilità alla aree private per gli interventi di disinfestazione

necessari;

Considerato che, fatti salvi gli interventi di competenza dell'Azienda Sanitaria relativi alla sorveglianza ed al controllo dei casi accertati o sospetti di malattie trasmesse da insetti vettori, l'intervento principale per la prevenzione di queste malattie è la massima riduzione possibile della popolazione di tali insetti rafforzando la lotta preventiva e agendo principalmente con la rimozione dei focolai larvali e con adeguati trattamenti larvicidi;

Vista la necessità di intervenire a tutela della salute e dell'igiene pubblica per prevenire e controllare malattie infettive trasmissibili all'uomo attraverso la puntura d'insetti vettori;

Considerata la necessità di provvedere a un'adeguata pubblicizzazione del presente provvedimento, mediante forme di comunicazione rivolte ai soggetti pubblici e privati, ai cittadini ed alla popolazione presente sul territorio comunale.

Ordina

alla ditta incaricata denominata

- di eseguire una immediata disinfestazione capillare di tutti i focolai larvali presenti intorno al sito dove è stato riscontrato il caso, in particolare di effettuare la ricerca, porta a porta, oltre ai contenitori e tombini, di eventuali focolai naturali e/o artificiali presenti in un'area del raggio di 100 metri estendibile fino a 300 metri in base in caso di focolaio epidemico (nelle vie

- di eseguire un intervento adulticida entro l'area sopra indicata dopo attenta valutazione del contesto con il personale dell'Az. ULSS n. 13 e comunque seguendo le indicazioni operative del Protocollo di emergenza

Ordina altresì

Ai soggetti gestori, responsabili o che ne abbiano l'effettiva disponibilità di aree strutturate con sistemi di raccolta delle acque meteoriche (privati cittadini, amministratori condominiali, società che gestiscono le aree di centri commerciali, ecc.) di:

- evitare l'abbandono definitivo o temporaneo negli spazi aperti pubblici e privati, compresi terrazzi, balconi e lastrici solari, di contenitori di qualsiasi natura e dimensione nei quali possa raccogliersi acqua piovana ed evitare qualsiasi raccolta d'acqua stagnante anche temporanea;
- procedere, ove si tratti di contenitori non abbandonati bensì sotto il controllo di chi ne ha la proprietà o l'uso effettivo, allo svuotamento dell'eventuale acqua in essi contenuta e alla loro sistemazione in modo da evitare accumuli idrici a seguito di pioggia; diversamente, procedere alla loro chiusura mediante rete zanzariera o coperchio a tenuta o allo svuotamento settimanale sul terreno, evitando l'immissione dell'acqua nei tombini;
- trattare l'acqua presente in tombini, griglie di scarico, pozzetti di raccolta delle acque meteoriche, presenti negli spazi di proprietà privata, ricorrendo a prodotti di sicura efficacia larvicida. La periodicità dei trattamenti deve essere congruente alla tipologia del prodotto usato, secondo le indicazioni riportate in etichetta; indipendentemente dalla periodicità, il trattamento deve essere ripetuto dopo ogni pioggia;
- tenere sgombri i cortili e le aree aperte da erbacce da sterpi e rifiuti di ogni genere, e sistemarli in modo da evitare il ristagno delle acque meteoriche o di qualsiasi altra provenienza;
- provvedere nei cortili e nei terreni scoperti dei centri abitati, e nelle aree ad essi confinanti incolte od improduttive, al taglio periodico dell'erba onde non favorire l'annidamento di adulti di zanzara;
- svuotare le piscine non in esercizio e le fontane o eseguirvi adeguati trattamenti larvicidi;
- mantenere le aree libere da sterpaglie, rifiuti o altri materiali che possano favorire il formarsi di raccolte d'acqua stagnanti;
- eseguire l'annaffiatura diretta di orti e giardini, tramite pompa o con contenitore da riempire di volta in volta e da svuotare completamente dopo l'uso;
- sistemare tutti i contenitori e altri materiali (es. teli di plastica) in modo da evitare la formazione di raccolte d'acqua in caso di pioggia;

- chiudere appropriatamente e stabilmente con coperchi a tenuta gli eventuali serbatoi d'acqua.
- adottare tutti i provvedimenti efficaci a evitare che i materiali permettano il formarsi di raccolte d'acqua, quali a esempio lo stoccaggio dei materiali al coperto, oppure la loro sistemazione all'aperto ma con copertura tramite telo impermeabile fissato e ben teso onde impedire raccolte d'acqua in pieghe e avvallamenti, oppure svuotamento delle raccolte idriche dopo ogni pioggia;
- stoccare i copertoni, dopo averli svuotati di eventuali raccolte d'acqua al loro interno, al coperto o in contenitori dotati di coperchio o se all'aperto, proteggerli con teli impermeabili in modo tale da evitare raccolte d'acqua sui teli stessi;

AVVERTE che

L'inosservanza delle disposizioni contenute nel provvedimento adottato comporta l'applicazione dell'art 650 c.p.

DISPONE

che all'esecuzione, alla vigilanza sull'osservanza delle disposizioni della presente ordinanza, all'accertamento ed all'irrogazione delle sanzioni provvedano, per quanto di competenza,, nonché ogni altro agente od ufficiale di polizia giudiziaria a ciò abilitato dalle disposizioni vigenti;