

DECRETO 3 giugno 2014.

WEST NILE DISEASE. Procedure operative di intervento e flussi informativi nell'ambito del Piano di sorveglianza nazionale per la Encefalomyelite di tipo West Nile (West Nile Disease), anno 2014.

IL DIRETTORE GENERALE
DELLA SANITÀ ANIMALE E DEI FARMACI VETERINARI

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

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

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

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

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

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

Vista l'ordinanza 4 agosto 2011 recante «Norme sanitarie in materia di encefalomyelite equina di tipo West Nile (West Nile Disease) e attività di sorveglianza sul territorio nazionale», pubblicata nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana n. 209 dell'8 settembre 2011, la cui efficacia è stata prorogata dall'ordinanza 6 agosto 2013 recante «Proroga ordinanza 4 agosto 2011, recante «Norme sanitarie in materia di encefalomyelite equina di tipo West Nile (West Nile Disease) e attività di sorveglianza sul territorio nazionale», pubblicata nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana n. 210 del 7 settembre 2013;

Visto che l'art. 2 della predetta ordinanza 4 agosto 2011, la cui efficacia è stata prorogata dall'ordinanza 6 agosto 2013, prevede la modifica del piano annuale con decreto del direttore generale della sanità animale e dei farmaci veterinari del Ministero della salute;

Rilevato che la diffusione dell'infezione avvenuta nel corso degli ultimi anni in Italia, con il coinvolgimento di nuovi territori, induce ad una profonda revisione dell'attuale piano di sorveglianza nei confronti della West Nile Disease (WND) pur restando fermo il principale e fondamentale obiettivo di tutela della salute pubblica del piano stesso;

Rilevato che per il rilievo precoce dell'infezione la sorveglianza più efficace è quella effettuata sugli insetti vettori e sugli uccelli, tenuto conto che sono quest'ultimi ospiti a infettarsi più precocemente nel corso della stagione epidemica;

Ritenuto che per quanto riguarda gli aspetti diagnostici è indispensabile che gli accertamenti di primo intervento (ELISA, PCR) siano delegati agli istituti zooprofilattici sperimentali competenti per territorio;

Acquisite le osservazioni e integrazioni trasmesse dal gruppo di lavoro costituito da alcune regioni e istituti zooprofilattici sperimentali;

Rilevato che il Centro di referenza nazionale per le malattie esotiche presso l'Istituto zooprofilattico sperimentale dell'Abruzzo e del Molise «G. Caporale» ha predisposto di concerto con la scrivente Direzione generale il programma per l'esecuzione delle «Procedure operative di intervento e flussi informativi nell'ambito del piano di sorveglianza nazionale per la encefalomyelite di tipo West Nile (West Nile Disease)»;

Dispone:

1. In conformità a quanto previsto al comma 2, art. 2 dell'ordinanza 4 agosto 2011, la cui efficacia è stata prorogata dall'ordinanza 6 agosto 2013, è resa operativa, per l'anno 2014, sul territorio nazionale l'esecuzione delle «Procedure operative di intervento e flussi informativi nell'ambito del piano di sorveglianza nazionale per la encefalomyelite di tipo West Nile (West Nile Disease)» di cui all'allegato A del presente dispositivo.

2. Il presente atto è inviato all'Ufficio centrale del bilancio per la registrazione e alla *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana per la sua pubblicazione.

Roma, 3 giugno 2014

Il direttore generale: FERRI

Registrato alla Corte dei conti il 1° luglio 2014

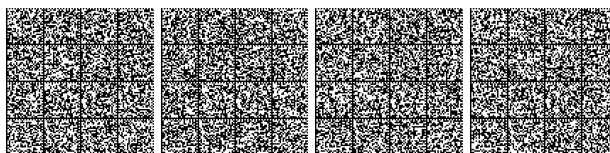
Ufficio di controllo sugli atti del MIUR, MIBAC, Min. salute e Min. lavoro, foglio n. 2534

ALLEGATO A

PROCEDURE OPERATIVE DI INTERVENTO E FLUSSI INFORMATIVI NELL'AMBITO DEL PIANO DI SORVEGLIANZA NAZIONALE PER LA ENCEFALOMIELE DI TIPO WEST NILE (WEST NILE DISEASE) 2014

1. INTRODUZIONE.

Le procedure operative di intervento e i flussi informativi descritti nel presente documento per l'anno 2014 sono adottate nell'ambito del piano di sorveglianza per la West Nile Disease (WND) e, come per gli anni precedenti, hanno il fine di individuare il più precocemente possibile la circolazione del virus West Nile (WNV) sia nelle aree dove l'infezione è già apparsa nel passato sia nelle restanti parti del territorio



nazionale al fine di mettere il Servizio sanitario nazionale nelle condizioni migliori e più efficaci per porre in atto tutte le misure preventive necessarie a tutelare la salute pubblica.

L'obiettivo principale del piano, pertanto, è quello di individuare precocemente la circolazione del WNV sul territorio nazionale negli uccelli, insetti o mammiferi attraverso programmi di sorveglianza mirati.

2. CRITERI GENERALI PER LA SORVEGLIANZA DELLA WND.

La sorveglianza nei confronti della WND si avvale di:

1) sorveglianza su uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio. È possibile, in alternativa attuare la sorveglianza su allevamenti avicoli rurali o all'aperto o tramite l'allestimento di gruppi di polli sentinella;

2) sorveglianza negli equidi;

3) sorveglianza entomologica;

4) sorveglianza su carcasse di uccelli selvatici.

Le modalità di attuazione delle diverse attività di sorveglianza differiscono a seconda della situazione epidemiologica riscontrata. Le aree oggetto del piano sono individuate sulla base delle evidenze epidemiologiche riferite agli anni precedenti, nonché sulla base di informazioni epidemiologiche/ecologiche/ambientali. Premesso che le regioni possono definire piani straordinari, da inviare preventivamente al Ministero e al CESME per una valutazione, finalizzati a rimodulare la sorveglianza sulla base delle evidenze che si manifestano nel corso dell'attività stessa, sono individuate 2 aree geografiche distinte.

A. Aree endemiche. Il territorio dove il WNV sta circolando o ha circolato nel corso degli anni precedenti e dove, quindi, si sono ripetutamente osservati episodi di infezione, nonché le aree limitrofe o subito a ridosso delle stesse:

Italia continentale: aree già interessate dalla circolazione virale (vedi tabella 1);

Italia insulare: regione Sardegna e parte della regione Sicilia (vedi tabella 1).

In queste aree la sorveglianza deve essere attuata tramite:

il controllo su uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio, o in alternativa su allevamenti avicoli rurali o all'aperto oppure su gruppi di polli sentinella appositamente allestiti;

la sorveglianza entomologica.

B. Resto del territorio nazionale. In queste aree le attività di sorveglianza prevedono: il monitoraggio sierologico a campione su sieri di cavalli per rilevare la presenza di IgM, secondo la numerosità campionaria riportata in tabella 4.

Al fine di completare le informazioni epidemiologiche rappresentative per tutto il territorio di competenza, le regioni possono effettuare, previa formalizzazione al Ministero e in accordo con il CESME, un monitoraggio sierologico a campione:

sui sieri di bovini ed ovi-caprini prelevati come sentinelle nell'ambito del piano di sorveglianza sierologica della bluetongue, oppure

su altre specie animali (ad es. cani in aree urbane).

Su tutto il territorio nazionale, inoltre, è obbligatoria la notifica immediata di tutti i casi sospetti di sintomatologia nervosa negli equidi e di tutti gli episodi di mortalità in uccelli selvatici non riferibili ad altre patologie infettive.

3. SORVEGLIANZA DELLA WND NELLE AREE ENDEMICHE.

3.1. Aree endemiche: unità geografica di riferimento.

Per poter meglio uniformare le attività di sorveglianza nell'ambito dell'area, si considera come unità geografica di riferimento il territorio con una superficie complessiva di circa 1200-1600 km². In tal modo, per le aree endemiche di ciascuna provincia è possibile definire il numero di unità geografiche di riferimento che essa include (tabella 1). Ne consegue che, ad esempio, se nel territorio di una provincia il numero di unità geografiche da esso rappresentato è pari a 0,5, il numero di unità campionarie previste dal presente documento nell'ambito delle diverse azioni di sorveglianza per ciascuna unità geografica di riferimento dovrà essere ridotto alla metà (esempio: numero di siti di cattura entomologica = 2, numero di siti effettivi di cattura da attivare sul territorio della provincia = 1), mentre, al contrario se il numero di unità geografiche da esso rappresentato è pari a 1,5, il numero di unità campionarie previste per ciascuna unità geografica di riferimento dovrà essere aumentato della metà (esempio: numero di siti cattura entomologica = 2, numero di siti effettivi di cattura da attivare sul territorio della provincia = 3).

3.2. Sorveglianza su uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio.

Per specie bersaglio si intende quel gruppo di specie recettive al virus che, dal punto di vista gestionale, sono sottoposte a controlli di popolazione nella gran parte del loro areale di distribuzione.

Appartengono alle specie bersaglio:

Gazza (*Pica pica*);

Cornacchia grigia (*Corvus corone cornix*);

Ghiandaia (*Garrulus glandarius*).

Per ogni unità geografica di riferimento si devono campionare almeno 100 esemplari di specie bersaglio avendo cura di eseguire le attività di campionamento nel periodo da marzo a novembre, avendo cura di distribuire i prelievi nel corso dell'intero periodo e tenendo in considerazione il periodo durante il quale è possibile effettuare il depopolamento.

Da ogni animale il cuore, cervello, rene e milza sono esaminati mediante RT-PCR presso i laboratori dell'IZS competente per territorio. I campioni positivi (porzioni dell'organo, omogenato, RNA) sono inviati, il prima possibile (entro e non oltre due giorni lavorativi) al Centro di referenza nazionale per le malattie esotiche (CESME) per la conferma. Per ogni specie prelevata deve essere compilata una scheda W02 di accompagnamento. Il CESME effettua gli esami di conferma entro dieci giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della salute.

Nel caso non fosse possibile effettuare il campionamento delle specie bersaglio, si possono, in alternativa, campionare animali di allevamenti avicoli rurali e all'aperto (vedi capitolo 3.3) o allestire gruppi di polli sentinella da cui effettuare prelievi regolari (vedi capitolo 3.4).

3.3. Sorveglianza in allevamenti avicoli rurali e all'aperto.

Nelle aree dove la sorveglianza sugli uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio non può essere attivata o si prevede che non sarà in grado di raggiungere almeno il 50% dei controlli previsti, è possibile, in alternativa, controllare sierologicamente un campione rappresentativo di allevamenti avicoli rurali o all'aperto, inclusi gli allevamenti di selvaggina da penna.

Nella scelta delle aziende da campionare saranno privilegiati gli allevamenti in prossimità di aree umide o comunque dove si registra un'elevata concentrazione di avifauna selvatica, sia stanziale che di passo.

Il numero di allevamenti da campionare è calcolato in base al numero delle aziende presenti in ciascuna provincia così come riportato in

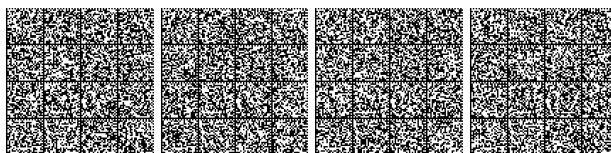


tabella 2. All'interno di ciascun allevamento sono sottoposti a prelievo gli animali di età inferiore ai 6 mesi. In tabella 3 è riportato il numero di animali da prelevare. Le attività di campionamento devono iniziare a marzo e terminare entro la fine di novembre. I prelievi possono essere effettuati contestualmente a quelli del piano di monitoraggio dell'influenza aviaria.

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

I campioni, accompagnati dalla scheda W01 già pre-compilata nella parte anagrafica (vedi le indicazioni contenute nel capitolo 9 del presente documento), sono inviati all'IZS competente per territorio che provvede ad effettuare l'esame di prima istanza (ELISA) sul siero e, in caso di positività, la RT-PCR sul sangue con EDTA. In caso di positività i campioni (siero e sangue con EDTA) sono inviati al CESME per la conferma il prima possibile (entro e non oltre due giorni lavorativi). Il CESME effettua gli esami di conferma entro dieci giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della salute.

3.4. Sorveglianza attraverso l'utilizzo di gruppi di animali sentinella.

Nelle aree dove la sorveglianza sugli uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio non può essere attivata o si prevede che non sarà in grado di raggiungere almeno il 50% dei controlli previsti, è possibile, in alternativa, utilizzare esemplari di specie avicole (polli o galline a fine carriera) in gabbia. Per ogni unità geografica di riferimento devono essere selezionati 4 siti di sorveglianza. In ciascun sito devono essere collocati 30 animali suddivisi in due gruppi di 15. Gli animali sentinella al momento della selezione non devono avere anticorpi nei confronti del WNV. Laddove possibile, è preferibile posizionarli in aziende zootecniche localizzate entro circa 800 m dalle aree di concentrazione dell'avifauna e/o di zone umide (raccolte d'acqua dolce o salmastra di qualunque tipo).

Dal 15 marzo e fino al 30 ottobre, devono essere effettuati prelievi di sangue con cadenza quindicinale, alternando i prelievi sui due sottogruppi.

Gli operatori devono prelevare per ciascun animale 2 campioni di sangue da porre in altrettante provette: una senza anticoagulante e una con EDTA (minimo 2 ml di sangue per provetta da conservare a temperatura di +4 °C). I campioni, accompagnati dalla scheda W01 pre-compilata nella parte anagrafica (vedi le indicazioni contenute nel capitolo 9 del presente documento), sono inviati all'IZS competente per territorio che provvede ad effettuare l'esame di prima istanza (ELISA) sul siero e, in caso di positività, la RT-PCR sul sangue con EDTA. In caso di positività i campioni (siero e sangue con EDTA) sono inviati al CESME per la conferma il prima possibile (entro e non oltre due giorni lavorativi). Il CESME effettua gli esami di conferma entro dieci giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della salute.

3.5. Sorveglianza entomologica.

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

Le aziende scelte devono avere le seguenti caratteristiche:

aziende/siti dove nel corso dei precedenti anni sono stati riscontrati casi clinici, sieroconversioni negli animali sentinella o positività nei culicidi;

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

aziende/siti in prossimità di aree umide e con un'elevata concentrazione di avifauna selvatica.

In ogni azienda/sito è installata almeno 1 trappola di tipo CO₂-CDC. Le catture sono effettuate con cadenza quindicinale, nel periodo da aprile a quando due catture consecutive non rilevano la presenza di alcun esemplare di zanzara, e comunque almeno fino alla fine di ottobre. La trappola deve essere attiva per almeno una notte (dal crepuscolo alla mattina successiva). In caso di più notti di cattura, le zanzare sono raccolte al termine di ogni notte di cattura.

Le azioni di sorveglianza entomologica possono essere garantite da altre attività di sorveglianza e controllo della fauna culicidica già predisposte dalle regioni.

I campioni, accompagnati dalla scheda W05, devono essere inviati all'IZS competente per territorio che provvede ad effettuare l'identificazione degli esemplari catturati e la RT-PCR sui pool di insetti.

I risultati relativi alle specie identificate (specie, numero, sesso) e ai pool analizzati per la ricerca virologica, devono essere inseriti nel sistema informativo nazionale per la WND secondo quanto riportato al capitolo 9.6.

In caso di positività alla RT-PCR i campioni (pool di insetti della medesima cattura e RNA) devono essere inviati al CESME il prima possibile (entro e non oltre due giorni lavorativi). Il CESME effettua gli esami di conferma entro dieci giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della salute.

4. ATTIVITÀ DI SORVEGLIANZA DELLA WND NELLA RESTANTE PARTE DEL TERRITORIO NAZIONALE.

4.1. Sorveglianza sierologica a campione negli equidi.

Considerata la difficoltà di trovare animali sieronegativi da arruolare nel piano di sorveglianza come animali sentinella, è istituito un piano di controllo a campione sui sieri di equidi nei confronti della WND secondo la numerosità campionaria di cui alla tabella 4, da svolgere su campioni prelevati da luglio a novembre per altri motivi (ad esempio per anemia infettiva equina) e volto ad evidenziare gli stadi iniziali d'infezione (evidenza sierologica di anticorpi IgM verso il WNV). Nel periodo da luglio a novembre devono essere campionati complessivamente 4621 capi, secondo la ripartizione provinciale di cui alla tabella 4.

Tali campioni, accompagnati dalla scheda W03 pre-compilata nella parte anagrafica e barrando l'opzione [4]: «controllo a campione» come motivo del prelievo, devono essere inviati all'IZS competente per territorio che provvederà ad effettuare la prova di ELISA-IgM. In caso di positività i campioni (siero positivo) devono essere inviati al CESME, il prima possibile (entro e non oltre due giorni lavorativi). Il CESME effettua gli esami di conferma entro dieci giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della salute.

4.2. Sorveglianza sierologica a campione sui sieri di altre specie animali.

In aggiunta a quanto riportato al capitolo precedente, al fine di completare le informazioni epidemiologiche rappresentative per tutto il territorio di competenza, le regioni possono effettuare, previa formalizzazione al Ministero e in accordo con il CESME, un monitoraggio sierologico a campione:

sui sieri di bovini ed ovi-caprini prelevati come sentinella nell'ambito del piano di sorveglianza sierologica della bluetongue (almeno 2309 capi secondo la ripartizione di cui alla tabella 5). Tali campioni sono selezionati casualmente dal personale degli IZS competenti



per territorio e successivamente esaminati mediante metodica ELISA. In caso di positività i campioni (siero positivo) devono essere inviati al CESME il prima possibile (entro e non oltre due giorni lavorativi); oppure

su altre specie animali (ad es. cani) previa intesa con il Ministero e il CESME.

Per ogni specie prelevata deve essere compilata una scheda W04 di accompagnamento.

5. SORVEGLIANZA CLINICA NEGLI EQUIDI.

La sorveglianza clinica negli equidi si attua su tutto il territorio nazionale. Tutti i casi di sintomatologia nervosa negli equidi devono essere notificati e sottoposti ad indagini approfondite per escludere o confermare la WND, indipendentemente dall'area geografica dove questi si manifestano.

Sintomi tipici della malattia negli equidi sono i seguenti:

debolezza arti posteriori;

incapacità a mantenere la stazione quadrupedale;

paralisi/paresi agli arti;

fascicolazioni muscolari;

deficit propriocettivi;

cecità;

ptosi labbro inferiore o paresi/paralisi dei muscoli labiali o facciali;

digrignamento dei denti.

Nel caso di sintomatologia neurologica riferibile a WND in equidi, il servizio veterinario dell'azienda USL competente per territorio deve darne immediata comunicazione alla Direzione generale della sanità animale e del farmaco veterinario e al servizio veterinario della regione, attraverso la registrazione del sospetto in SIMAN. Il servizio veterinario dell'ASL esegue i prelievi di sangue con e senza anticoagulante EDTA (1) sugli equidi che manifestano sintomatologia clinica riferibile a WND. I campioni di sangue con la relativa scheda W03 - scegliendo come motivo del prelievo [1]: «equidi con sintomi clinici» sono inviati all'Istituto zooprofilattico sperimentale competente per territorio che provvederà ad effettuare la prova di ELISA-IgM sul siero e la RT-PCR sul sangue con EDTA. In caso di positività i campioni devono essere inviati al CESME, il prima possibile (entro e non oltre due giorni lavorativi). Il CESME effettua gli esami di conferma entro cinque giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della salute.

Qualora il sospetto riguardi animali deceduti o soppressi in seguito a sindrome neurologica, il servizio veterinario dell'azienda USL competente per territorio, in collaborazione con l'Istituto zooprofilattico sperimentale competente per territorio esegue l'esame anatomico-patologico ed il prelievo del cervello e del midollo spinale, del cuore, del rene e della milza, i campioni, accompagnati dalla scheda W03 — motivo del prelievo [3]: «controllo su equidi deceduti/abbattuti» — debitamente compilata devono essere inviati all'IZS competente per territorio che provvede ad effettuare la RT-PCR. In caso di positività alla RT-PCR i campioni devono essere inviati al CESME il prima possibile (entro e non oltre due giorni lavorativi) in quantità idonea, perfettamente confezionati e conservati, accompagnati dalla scheda W03. Il CESME effettua gli esami di conferma entro cinque giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della salute.

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

6. SORVEGLIANZA SU CARCASSE DI UCCELLI SELVATICI.

La sorveglianza passiva sull'avifauna selvatica si esegue su tutto il territorio nazionale e deve essere intensificata durante il periodo di attività degli insetti vettori. Ogni animale trovato morto ed appartenente agli ordini dei passeriformi, ciconiiformi, caradriiformi e strigiformi deve essere recuperato ed inviato all'Istituto zooprofilattico sperimentale competente per territorio per l'esame anatomico-patologico. Da ogni animale il cuore, cervello, rene e milza sono esaminati tramite RT-PCR presso i laboratori dell'IZS competente per territorio. I campioni positivi (porzioni dell'organo, omogenato, RNA) sono inviati, il prima possibile (entro e non oltre due giorni lavorativi) al Centro di referenza nazionale per le malattie esotiche (CESME). I campioni devono essere accompagnati dalla scheda W02 debitamente compilata. Per ogni specie di uccello va compilata una distinta scheda W02 di accompagnamento. Analogamente si dovrà procedere in tutti gli episodi di mortalità anomala o di aumento dell'incidenza della mortalità nell'avifauna selvatica segnalati per ogni altra specie nelle aree di presenza e durante il periodo di attività dei vettori. Il CESME effettua gli esami di conferma entro dieci giorni lavorativi dal ricevimento del campione. Il CESME trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della salute.

7. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI DIAGNOSTICI.

Un caso è considerato sospetto di WND quando si ha:

sieroconversione al test ELISA in polli o galline sentinella;

positività al test ELISA in soggetti di allevamenti avicoli rurali o all'aperto di età inferiore ai sei mesi;

positività al test ELISA IgM in equidi in assenza di sintomatologia;

positività al test ELISA IgM e/o al saggio RT-PCR in equidi con sintomatologia clinica riconducibile a WND effettuato/i presso gli IZS competenti per territorio;

positività al test RT-PCR in organi o sangue di uccelli (catturati, campionati, ritrovati morti) effettuato presso gli IZS competenti per territorio;

positività al test RT-PCR in pool di zanzare effettuato presso gli IZS competenti per territorio.

Tutti i casi sospetti devono essere confermati dal CESME.

Un caso è considerato confermato quando si ha:

sieroconversione al test ELISA in polli o galline sentinella confermata dal saggio di sieroneutralizzazione effettuato dal CESME;

positività al test ELISA in soggetti di allevamenti avicoli rurali o all'aperto di età inferiore ai sei mesi confermata dal saggio di sieroneutralizzazione effettuato dal CESME;

positività al test ELISA IgM in equidi, confermata dagli esami sierologici effettuati dal CESME;

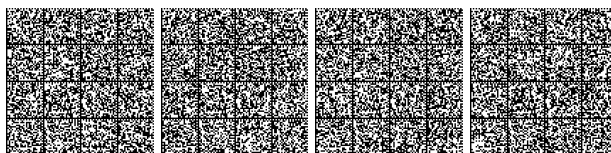
positività al test ELISA IgM e/o agli esami virologici (RT-PCR) in equidi con sintomatologia clinica riconducibile a WND riscontrata presso gli IZS competenti per territorio e confermata dal CESME;

positività al test (RT-PCR) in organi o sangue di uccelli (catturati, campionati, ritrovati morti), riscontrata presso gli IZS competenti per territorio e confermata dal CESME;

positività agli esami virologici (RT-PCR) in pool di zanzare riscontrata presso gli IZS competenti per territorio e confermata dal CESME.

8. MISURE DA ADOTTARE IN CASO DI POSITIVITÀ.

Qualora si abbiano casi confermati in soggetti di allevamenti avicoli rurali o all'aperto, oppure in animali sentinella delle specie aviarie, il servizio veterinario dell'azienda USL, ricevuta la comunicazione della conferma di positività, in accordo con il proprietario provvede ad abbattere ed inviare gli animali positivi accompagnati dalla scheda W01, all'Istituto zooprofilattico sperimentale competente per territorio. Il per-



sonale dell'Istituto zooprofilattico sperimentale esegue gli esami anatomo-patologici su tutti i soggetti pervenuti ed esamina il cuore, cervello, rene e milza di ciascun animale mediante RT-PCR. I campioni positivi (porzioni dell'organo, omogenato, RNA) sono inviati, contestualmente a copia della scheda W01 (vedi le indicazioni contenute nel capitolo 9 del presente documento), il prima possibile (entro e non oltre due giorni lavorativi) al Centro di referenza nazionale per le malattie esotiche (CESME) per la conferma. Il CESME effettua gli esami di conferma entro dieci giorni lavorativi dal ricevimento del campione e trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della salute.

Qualora si abbiano casi confermati in equidi, il servizio veterinario dell'azienda USL effettua:

un'indagine epidemiologica volta a definire il probabile sito di infezione dell'animale infetto;

un campionamento entomologico (utilizzando trappole del tipo CO₂-CDC, Gravid traps, BG-Sentinel e aspirazione). Il protocollo di cattura (frequenza e durata) è stabilito di volta in volta tra l'IZS competente per territorio e il CESME;

una visita clinica ed il prelievo di campioni di sangue in un campione degli equidi presenti nell'azienda secondo la numerosità descritta in tabella 3. I campioni di sangue sono inviati all'Istituto zooprofilattico sperimentale di competenza con la relativa scheda W03 che provvederà ad effettuare la prova di ELISA-IgM. In caso di positività i campioni devono essere inviati al CESME, il prima possibile (entro e non oltre due giorni lavorativi). Il CESME effettua gli esami entro dieci giorni lavorativi dal ricevimento del campione e trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della salute.

Qualora i casi confermati in qualsiasi specie riguardino aziende situate in territori provinciali non interessati in passato dalla circolazione del WNV, il servizio veterinario dell'azienda USL competente per territorio sottopone:

a sorveglianza entomologica l'azienda interessata (utilizzando trappole del tipo CO₂-CDC, Gravid traps, BG-Sentinel e aspirazione). Il protocollo di cattura (frequenza e durata) è stabilito di volta in volta tra l'IZS competente per territorio e il CESME;

a prelievo ematico un campione di equidi stanziali non vaccinati per West Nile, presenti nel raggio di 4 km dall'allevamento con i casi confermati. Il campione di animali da prelevare è calcolato sulla base della tabella 3. I campioni di sangue sono inviati all'Istituto zooprofilattico sperimentale di competenza con la relativa scheda W03 — motivo del prelievo [2]: «controllo a campione su equidi stanziali presenti nelle aziende a 4 km rispetto al focolaio». L'IZS competente per territorio provvederà ad effettuare la prova di ELISA-IgM. In caso di positività i campioni devono essere inviati al CESME, il prima possibile (entro e non oltre due giorni lavorativi). Il CESME effettua gli esami entro dieci giorni lavorativi dal ricevimento del campione e trasmette il rapporto di prova all'IZS, alla regione territorialmente competente e, in caso di positività, ai competenti uffici del Ministero della salute.

Nel caso di riscontro di positività al test ELISA, confermata dal saggio di sieroneutralizzazione effettuato dal CESME, in bovini e ovicapri prelevati come sentinelle nell'ambito del piano di sorveglianza sierologica della bluetongue o in altre specie animali, se in territori provinciali non interessati in passato dalla circolazione del WNV, il Ministero della salute, di concerto con il CESME e il servizio veterinario della regione interessata, potrà disporre ulteriori e specifiche indagini al fine di stabilire l'origine e l'estensione dell'infezione riscontrata.

9. REGISTRAZIONE DEI DATI E FLUSSI INFORMATIVI.

9.1. Allevamenti avicoli/gruppi di animali sentinella delle specie aviarie.

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

Per quanto concerne i gruppi di animali sentinella delle specie aviarie, nel caso in cui le sentinelle si trovino all'interno di aziende zootecniche, il gruppo deve essere identificato dallo stesso codice aziendale attribuito all'azienda zootecnica ospitante e registrato in BDN. In caso contrario, il gruppo di sentinelle deve comunque essere registrato in BDN come struttura sentinella assegnandogli un codice aziendale.

A ciascun sottogruppo è attribuito un numero progressivo di identificazione, da mantenere fisso per tutta la durata dei controlli. Ogni singolo animale deve essere contraddistinto da un numero univoco (per esempio utilizzando un anello da porre sulla zampa) per tutta la durata del campionamento.

I campioni devono essere accompagnati dalla scheda W01 precompilata per tutti i dati anagrafici, che può essere stampata dalla BDN anche per il tramite del sistema informativo nazionale.

9.2. Sorveglianza su uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio.

I campioni prelevati da uccelli appartenenti a specie bersaglio ai sensi dei capitoli 3.2 del presente documento devono essere accompagnati dalla scheda W02 debitamente compilata.

9.3. Controlli a campione su sieri di equidi prelevati per altri motivi.

I campioni devono essere accompagnati dalla scheda W03 precompilata per tutti i dati anagrafici. Tutti i capi sottoposti a controllo devono essere identificati con codice identificativo (microchip o passaporto).

9.4. Equidi - sorveglianza sindromica (sindromi neurologiche e equidi deceduti o soppressi).

Il Servizio veterinario dell'AUSL preleva, secondo le modalità descritte nel capitolo 5 del presente documento, i campioni di siero, sangue e organi dagli animali delle aziende equine dove si sono verificati casi di WND. I campioni devono essere accompagnati dalla scheda W03 e consegnati all'Istituto zooprofilattico sperimentale territorialmente competente che li invia al CESME.

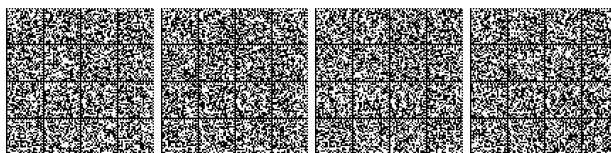
9.5. Insetti.

I campioni devono essere accompagnati dalla scheda W05 e consegnati all'Istituto zooprofilattico sperimentale territorialmente competente.

9.6. Flussi dati.

Gli Istituti zooprofilattici sperimentali devono registrare con cadenza settimanale tutti i dati degli esami da loro effettuati, ai sensi del presente provvedimento, nel sistema informativo nazionale per la WND, secondo le modalità tecniche definite dal CESME.

Il Servizio veterinario dell'ASL deve registrare nel Sistema informativo malattie animali nazionale (SIMAN) puntualmente, e comunque entro due giorni lavorativi i casi confermati di avicoli, uccelli stanziali appartenenti a specie bersaglio, uccelli selvatici, e pool di zanzare. I casi confermati negli equidi devono essere registrati in SIMAN entro 24 ore. La definizione di casi sospetti e confermati è stabilita nel capitolo 7 del presente documento. La data sospetto deve corrispondere alla data del prelievo e la data conferma alla data di emissione del rapporto di prova del CESME. La chiusura dei focolai confermati di WND deve avvenire entro la fine di febbraio dell'anno successivo al riscontro della positività.



**TABELLA 1. - NUMERO DI UNITÀ GEOGRAFICHE
NELLE AREE ENDEMICHE**

Regione/Provincia	Superficie totale (Km2)	Numero di Unità di riferimento
Lombardia	23.863,65	7,5
Cremona	1.770,46	1
Mantova	2.341,44	1,5
Lodi	782,99	0,5
Brescia	4785,62	2
Pavia	2968,64	1,5
Veneto	18.407,42	7,5
Verona	3.096,39	2
Treviso	2.479,83	1,5
Venezia	2.472,91	1,5
Padova	2.144,15	1,5
Rovigo	1.819,35	1
Friuli-Venezia Giulia	7.862,30	3,25
Udine	4.907,24	1,5
Gorizia	467,14	0,25
Trieste	212,51	0
Pordenone	2.275,42	1,5
Emilia-Romagna	22.452,78	6,5
Piacenza	2.585,86	0,5
Parma	3.447,48	1
Reggio nell'Emilia	2.291,26	0,5
Modena	2.688,02	1
Bologna	3.702,32	1
Ferrara	2.635,12	1,5
Ravenna	1.859,44	1
Sicilia	25.832,39	15
Trapani	2.469,62	1,5
Palermo	5.009,28	3
Messina	3.266,12	2
Agrigento	3.052,59	2
Caltanissetta	2.138,37	1
Enna	2.574,70	1,5
Catania	3.573,68	2
Ragusa	1.623,89	1
Siracusa	2.124,13	1
Sardegna	24.100,02	14,5
Sassari	4.285,91	2,5
Nuoro	3.931,68	2,5
Cagliari	4.570,41	2,5
Oristano	3.034,25	2
Olbia-Tempio	3.406,18	2
Ogliastra	1.854,55	1
Medio Campidano	1.517,34	1
Carbonia-Iglesias	1.499,71	1



**TABELLA 2. - NUMERO DI ALLEVAMENTI
DA CAMPIONARE PER LA RICERCA DEL WNV**

N. totale di allevamenti sul territorio	N. di allevamenti da campionare
≤ 34	tutti
35 – 50	35
51 – 80	42
81 – 250	53
≥ 250	60

**TABELLA 3. NUMERO DI CAPI DA SOTTOPORRE
A PRELIEVO PER LA RICERCA DI WNV**

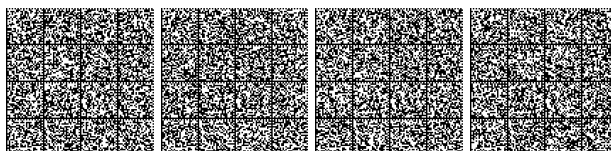
Popolazione¹	N. di capi da prelevare
≤ 10	tutti
11	10
12	11
13 – 14	12
15 – 16	13
17 – 18	14
19 – 20	15
21 – 23	16
24 – 26	17
27 – 30	18
31 – 35	19
36 – 41	20
42 – 48	21
49 – 58	22
59 – 72	23
73 – 93	24
94 – 128	25
129 – 199	26
200 – 418	27
≥ 419	28

¹ Per quanto riguarda la sorveglianza in allevamenti avicoli rurali o all'aperto, si intende il numero di capi presenti in azienda, mentre per quanto riguarda i controlli su equidi nei 10 km attorno ad allevamenti avicoli rurali e all'aperto o a gruppi di polli sentinella risultati positivi si intende la popolazione di equidi presenti nei 10 km.



**TABELLA 4. - NUMERO DI EQUIDI DA CAMPIONARE
PER ELISA-IGM PER PROVINCIA**

Regione/Provincia	Cavalli (IgM)
Piemonte	572
Torino	154
Vercelli	47
Novara	30
Cuneo	155
Asti	34
Alessandria	80
Biella	21
Verbano-Cusio-Ossola	51
Valle d'Aosta/Vallée d'Aoste	74
Valle d'Aosta/Vallée d'Aoste	74
Lombardia	253
Varese	27
Como	29
Sondrio	72
Milano	36
Bergamo	62
Lecco	18
Monza e della Brianza	9
Trentino-Alto Adige/Südtirol	307
Bolzano/Bozen	167
Trento	140
Veneto	144
Vicenza	61
Belluno	83
Liguria	122
Imperia	26
Savona	35
Genova	41
La Spezia	20
Toscana	518
Massa-Carrara	26
Lucca	40
Pistoia	22
Firenze	79
Livorno	27
Pisa	55
Arezzo	73
Siena	86
Grosseto	102
Prato	8



Umbria	191
Perugia	143
Terni	48
Marche	212
Pesaro e Urbino	58
Ancona	44
Macerata	63
Ascoli Piceno	28
Fermo	19
Lazio	388
Viterbo	81
Rieti	62
Roma	121
Latina	51
Frosinone	73
Abruzzo	245
L'Aquila	114
Teramo	44
Pescara	28
Chieti	59
Molise	101
Campobasso	66
Isernia	35
Campania	309
Caserta	60
Benevento	47
Napoli	27
Avellino	63
Salerno	112
Puglia	441
Foggia	158
Bari	87
Taranto	56
Brindisi	42
Lecce	63
Barletta-Andria-Trani	35
Basilicata	227
Potenza	149
Matera	78
Calabria	342
Cosenza	151
Catanzaro	54
Reggio di Calabria	72
Crotone	39
Vibo Valentia	26



**TABELLA 5. - NUMERO DI SENTINELLE BOVINE ED OVI-CAPRINE
DA CAMPIONARE IN C-ELISA PER PROVINCIA**

Regione/Provincia	Sentinelle BT
Piemonte	285
Torino	77
Vercelli	23
Novara	15
Cuneo	78
Asti	17
Alessandria	40
Biella	10
Verbano-Cusio-Ossola	25
Valle d'Aosta/Vallée d'Aoste	37
Valle d'Aosta/Vallée d'Aoste	37
Lombardia	127
Varese	14
Como	14
Sondrio	36
Milano	18
Bergamo	31
Lecco	9
Monza e della Brianza	5
Trentino-Alto Adige/Südtirol	153
Bolzano/Bozen	83
Trento	70
Veneto	72
Vicenza	31
Belluno	41
Liguria	61
Imperia	13
Savona	17
Genova	21
La Spezia	10
Toscana	260
Massa-Carrara	13
Lucca	20
Pistoia	11
Firenze	40
Livorno	14
Pisa	28
Arezzo	36
Siena	43
Grosseto	51
Prato	4



Umbria	95
Perugia	71
Terni	24
Marche	106
Pesaro e Urbino	29
Ancona	22
Macerata	31
Ascoli Piceno	14
Fermo	10
Lazio	194
Viterbo	41
Rieti	31
Roma	60
Latina	25
Frosinone	37
Abruzzo	122
L'Aquila	57
Teramo	22
Pescara	14
Chieti	29
Molise	50
Campobasso	33
Isernia	17
Campania	154
Caserta	30
Benevento	23
Napoli	13
Avellino	32
Salerno	56
Puglia	221
Foggia	79
Bari	44
Taranto	28
Brindisi	21
Lecce	32
Barletta-Andria-Trani	17
Basilicata	113
Potenza	74
Matera	39
Calabria	172
Cosenza	76
Catanzaro	27
Reggio di Calabria	36
Crotone	20
Vibo Valentia	13

