



Regione Abruzzo

# Zoonosi emergenti trasmesse da vettori

## Emerging vector-borne zoonoses





Gruppo di lavoro n. 2

## **Zoonosi emergenti trasmesse da vettori**

**Progetto Interreg/Cards/Phare  
Centro Interregionale per la Sicurezza  
Alimentare e l'Analisi dei Rischi (SARÀ)**

"Questa pubblicazione è stata progettata e realizzata nell'ambito del progetto SARÀ "Centro Interregionale per la Sicurezza Alimentare e l'Analisi del Rischio" finanziato dal Nuovo Programma di Prossimità Adriatico INTERREG/CARDS/PHARE. Progetto n. 173".

# Indice

<b>Abbreviazioni</b>	<b>4</b>
<b>Componenti del gruppo di lavoro 2</b>	<b>5</b>
<b>Sommario</b>	<b>7</b>
<b>Introduzione</b>	<b>9</b>
<b>Le reti di sorveglianza internazionali come strumenti di supporto per l'analisi dei rischi</b>	<b>11</b>
Il processo di analisi dei rischi	11
Il ruolo della sorveglianza nel processo di analisi dei rischi	13
Necessità di reti di sorveglianza internazionali	13
<b>Cenni storici sull'infezione da virus del Nilo occidentale</b>	<b>15</b>
Storia	15
Descrizione clinica	16
Epidemiologia	17
Sorveglianza	18
West Nile Disease in Romania	18
West Nile Disease in Italia	21
West Nile Disease negli Stati Uniti	21
<b>Breve storia della Crimean-Congo Haemorrhagic Fever</b>	<b>23</b>
La CCHF nei Balcani e in Medio Oriente	24
La CCHF nelle Repubbliche dell'ex Unione Sovietica	26
<b>Valutazione dei sistemi di sorveglianza esistenti</b>	<b>29</b>
<b>Descrizione dell'applicazione GIS su base internet</b>	<b>31</b>
Architettura del sistema	31
Struttura del database e tipologie di informazioni raccolte	32
L'applicazione GIS internet	34
<b>Conclusioni</b>	<b>37</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>41</b>

## Abbreviazioni

<b>BT</b>	Febbre catarrale ovina (Bluetongue)
<b>BTV</b>	Virus responsabile della Febbre catarrale ovina (Bluetongue)
<b>CCHF</b>	Crimean-Congo Hemorrhagic fever
<b>CCHFV</b>	Virus responsabile della Crimean-Congo Hemorrhagic fever
<b>ELISA</b>	Prova enzimatica di immunoassorbimento (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)
<b>ENP</b>	Politica europea di vicinato (European Neighbourhood Policy)
<b>HIT</b>	Test di inibizione dell'emoagglutinazione (Haemagglutination inhibition test)
<b>IFAT</b>	Prova indiretta di immunofluorescenza (Indirect fluorescent antibody test)
<b>OIE</b>	Organizzazione mondiale per la Sanità Animale (World Organisation for Animal Health)
<b>QRA</b>	Analisi quantitativa dei rischi (Quantitative Risk Analysis)
<b>RT-PCR</b>	Reazione a catena della polimerasi inversa (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction)
<b>RT-nPCR</b>	Reazione a catena della polimerasi inversa "nested" (Reverse Transcriptase nested-Polymerase Chain reaction)
<b>Real-Time RT-PCR</b>	Reazione a catena della polimerasi inversa in "real time" (Real-Time Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction)
<b>SPS Agreement</b>	Accordo sanitario e fitosanitario (Sanitary and Phytosanitary Agreement)
<b>TAHC</b>	Codice zoosanitario per gli animali terrestri (Terrestrial Animal Health Code)
<b>VN</b>	Prova di neutralizzazione del Virus (Virus neutralisation test)
<b>WHO</b>	Organizzazione mondiale della Sanità (World Health Organisation)
<b>WND</b>	West Nile Disease
<b>WNV</b>	Virus responsabile della West Nile Disease
<b>WTO</b>	Organizzazione mondiale del commercio (World Trade Organisation)

## Componenti del gruppo di lavoro 2

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise  
“G. Caporale”:

**Paolo Calistri, Armando Giovannini**

Regione Emilia-Romagna, servizi veterinari regionali:

**Francesco Bonicelli, Luisa Loli Piccolomini**

Regione Molise, servizi veterinari regionali:

**Paolo Silvestri**

Regione Abruzzo:

**Rino Di Felice**

Istituto veterinario nazionale della Croazia:

**Eddy Listes**



## Sommario

Il Gruppo di lavoro 2 sulle zoonosi emergenti trasmesse da vettori ha deciso di concentrare le proprie attività su due zoonosi principali trasmesse da vettori, la West Nile Disease (WND) e la Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF), con l'obiettivo di analizzare i sistemi di sorveglianza esistenti nei paesi dell'area dei Balcani e del Mediterraneo orientale e formulare proposte per criteri armonizzati per la sorveglianza di queste zoonosi emergenti.

Le zoonosi virali trasmesse da artropodi comprese nel presente progetto rappresentano un gruppo importante di infezioni per l'uomo e gli animali, ed una minaccia sanitaria emergente nel Bacino del Mediterraneo e nei paesi vicini. Queste infezioni, in quanto trasmesse da vettori, non possono essere prevenute soltanto attraverso una politica di controllo del commercio di animali. Le singole misure a livello nazionale tendono ad essere completamente inadeguate, e molto spesso sono influenzate dalle diverse scelte fatte in paesi limitrofi. Ciò implica che gli obiettivi a medio e lungo termine per la sorveglianza e la prevenzione di CCHF e WND devono comprendere la creazione di sistemi di sorveglianza internazionali che coinvolgano tutti i paesi a rischio delle aree del Mediterraneo e limitrofe.

Inoltre, la raccolta di dati epidemiologici, attraverso sistemi di sorveglianza efficaci e basati su protocolli diagnostici convalidati e standardizzati, è fondamentale per qualunque seria e scientifica valutazione del rischio di introduzione e/o diffusione dei patogeni in aree geografiche definite. L'esistenza di sistemi di sorveglianza armonizzati, è fondamentale per effettuare valutazioni dei rischi basate rigorosamente su dati di fatto e che siano realmente utili per il processo decisionale.

Poiché lo sviluppo di una rete di sorveglianza internazionale può rappresentare il primo passo per la standardizzazione delle principali informazioni epidemiologiche e per la pianificazione delle attività di sorveglianza armonizzate, è stato creato un primo prototipo di rete di sorveglianza GIS su base internet per la raccolta e l'analisi delle informazioni esistenti sulla presenza di WND e CCHF ed su altre informazioni epidemiologiche rilevanti derivanti dalle attività di sorveglianza.

La scelta del tipo di informazioni da includere nella rete si è basata anche sull'analisi delle risposte ad un questionario specifico per la valutazione dei sistemi di sorveglianza WND e CCHF esistenti, sottoposto alle autorità nazionali competenti di Albania, Bulgaria, Croazia e Romania.

Nonostante il rischio che tali malattie si verifichino nelle aree dei Balcani e del Mediterraneo, un quadro chiaro della distribuzione geografica (presenza/assenza) delle due infezioni non è ancora pienamente disponibile, anche se esistono indicazioni sulla circolazione dei virus in alcune aree e sulla presenza di vettori competenti nella regione. La raccolta di dati sulla presenza di WND e CCHF nelle aree dei Balcani e del Mediterraneo orientale si basa attualmente per lo più sulla sorveglianza passiva.

Per quanto concerne gli aspetti veterinari, la sorveglianza passiva negli animali può essere utile per individuare i casi di WND negli equini, in cui la patologia si presenta spesso con sintomi evidenti. Tuttavia, questo tipo di sorveglianza può rivelare la circolazione del virus della WND (WNV) soltanto in fasi finali del ciclo di trasmissione. Invece, per il CCHF l'utilizzo della sola sorveglianza passiva non aiuta, poiché l'infezione è completamente asintomatica negli animali e la presenza del virus nell'ambiente è individuata dalla sporadica comparsa della malattia nell'uomo.

Di conseguenza, è fondamentale sviluppare e attuare un sistema di sorveglianza attiva nelle popolazioni animali e rafforzare i sistemi di denuncia dei casi negli esseri umani, considerando che i vettori sono presenti in tutta l'area del Mediterraneo, ed entrambe le malattie sono sporadicamente riportate (WND) o fortemente sospette (WND, CCHF).

Inoltre, la sorveglianza della WND e della CCHF deve anche comprendere attività di monitoraggio degli animali selvatici con l'obiettivo di verificare il grado di endemizzazione delle infezioni e determinare possibili fonti di introduzione e diffusione.

Le attività di sorveglianza sugli animali selvatici prevedono il coinvolgimento di competenze specifiche e di esperti del settore, quali ornitologi e zoologi.

Inoltre, la collaborazione fra servizi medici e veterinari è fondamentale per la corretta sorveglianza ed il controllo di queste malattie. Devono essere definiti protocolli dettagliati per lo scambio di informazioni fra servizi e per gli interventi in caso di sospetta trasmissione del virus. Lo sviluppo di sistemi informativi comuni, in cui i dati derivano dalle attività dei servizi sanitari e veterinari pubblici, può migliorare praticamente la collaborazione fra servizi e fornire un quadro epidemiologico completo della situazione.

Fra le attività da realizzare in collaborazione fra servizi medici e veterinari, lo sviluppo di campagne di educazione sanitaria e di comunicazione verso le popolazioni a rischio sono di fondamentale importanza. I due servizi devono fornire messaggi chiari e univoci alle popolazioni.

Infine, sono fornite raccomandazioni più specifiche per stabilire la *definizione di caso e protocolli di sorveglianza standardizzati*.

Le attività del gruppo di lavoro 2 sono state condotte in sinergia con quelle realizzate nel quadro di un altro progetto concomitante per l'attuazione di una rete di sorveglianza per le malattie trasmesse da vettori in ambito veterinario (bluetongue) e in sanità pubblica (WND, CCHF).

## Introduzione

Il Gruppo di lavoro 2 sulle zoonosi emergenti trasmesse da vettori ha ricevuto l'incarico di analizzare i sistemi di sorveglianza esistenti nei paesi della regione dei Balcani e del Mediterraneo orientale e di formulare proposte di criteri armonizzati per la sorveglianza delle zoonosi emergenti trasmesse da vettori. Il Gruppo di lavoro ha deciso di concentrare le proprie attività su due zoonosi principali trasmesse da vettori, già presenti nell'area geografica in questione: West Nile Disease (WND) e Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF).

Le attività sono state condotte in sinergia con quelle realizzate nel quadro di un altro progetto concomitante per l'attuazione di una rete di sorveglianza per le malattie trasmesse da vettori in ambito veterinario (bluetongue) e in sanità pubblica (WND, CCHF) nell'area dei Balcani. Questo progetto è stato promosso dalla Regione Abruzzo e finanziato dal Ministero degli Affari Esteri italiano. Il Centro di collaborazione OIE per la Formazione veterinaria, l'Epidemiologia, la sicurezza degli alimenti e il benessere animale, presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale" (OIE-IZS A&M) è stato il coordinatore scientifico. I beneficiari del progetto sono stati i servizi veterinari centrali (compresi i laboratori veterinari nazionali ed i centri epidemiologici veterinari nazionali) dei paesi seguenti: Albania, Croazia, Bulgaria e Romania.

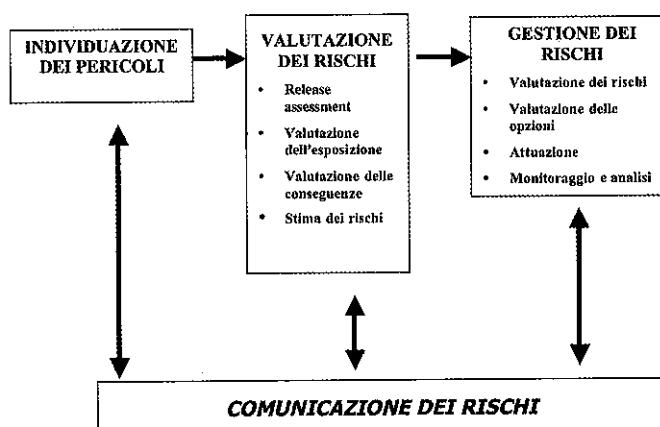


# Le reti internazionali di sorveglianza internazionali come strumenti di supporto per l'analisi dei rischi

## Il processo dell'analisi dei rischi

In base ai criteri stabiliti dall'Organizzazione mondiale del commercio nell'accordo sanitario e fitosanitario (SPS) in merito alle misure da attuare nel commercio internazionale di animali vivi, prodotti di origine animale e piante, l'utilizzo dell'analisi dei rischi è obbligatorio per giustificare l'applicazione di misure sanitarie o fitosanitarie. Le norme tecniche per l'attuazione di queste procedure sono definite e stabilite dall'OIE (World Organization for Animal Health), dal Codex Alimentarius (FAO) e dalla Convenzione internazionale sulla tutela delle piante (IPPC).

Il Codice zoosanitario per gli animali terrestri (Terrestrial Animal Health Code – TAHC) dell'OIE descrive le quattro componenti dell'analisi dei rischi per l'importazione di animali vivi (**Figura 1**):



**Fig. 1:** La struttura del processo di analisi dei rischi dell'OIE (OIE, 2004).

- *identificazione dei pericoli;*
- *valutazione dei rischi;*
- *gestione dei rischi;*
- *comunicazione dei rischi.*

La “identificazione dei pericoli” rappresenta il processo di individuazione degli agenti patogeni o vettori in grado di trasmettere una malattia che può essere introdotta dal prodotto da importare. Questa procedura richiede una buona conoscenza delle patologie animali, delle caratteristiche delle patologie e delle proprietà degli agenti patogeni (OIE, 2004).

La fase di “valutazione dei rischi” è composta da quattro fasi (OIE, 2007):

- “*release assessment*”, vale a dire il processo di descrizione dei percorsi biologici necessari affinchè un’attività di importazione si possa concludere con il “rilascio” (ovvero l’introduzione) di agenti patogeni in un particolare ambiente, e la stima qualitativa o quantitativa della probabilità che tale processo avventarsi verifichi;
- *valutazione dell’esposizione*, che descrive i percorsi biologici necessari affinchè si abbia l’esposizione degli animali e delle persone nel paese di importazione ai pericoli (in questo caso agli agenti patogeni) legati ad una determinata fonte di rischio, e la stima qualitativa o quantitativa della probabilità che tale esposizione avvenga;
- *valutazione delle conseguenze*, durante la quale sono quantificate le relazioni fra l’esposizione ad un agente biologico e le conseguenze di tali esposizioni. Deve esistere un processo causale attraverso cui le esposizioni producono conseguenze negative per la salute o per l’ambiente, che possono a loro volta portare a conseguenze socio-economiche. La valutazione delle conseguenze descrive le conseguenze di una determinata esposizione e stima la probabilità che si verifichino;
- *stima dei rischi*, vale a dire il processo di integrazione dei risultati del “*release assessment*”, della valutazione dell’esposizione e della valutazione delle conseguenze per produrre misure generali contro i rischi associate ai pericoli individuati.

La “*release assessment*” e la valutazione dell’esposizione richiedono le competenze di un epidemiologo veterinario. Quando si valutano i rischi posti da patologie trasmesse da vettori, possono essere necessarie le conoscenze di entomologi, parassitologi e climatologi. La valutazione delle conseguenze richiede le competenze di un epidemiologo veterinario e in alcuni casi le capacità di un economista. La necessità di accedere a fonti di dati ed informazioni può anche richiedere le competenze di uno specialista informatico. Inoltre, sono necessarie le conoscenze di esperti nei relativi settori produttivi.

Lo scopo del processo di “gestione dei rischi” è di individuare, selezionare e attuare misure per ridurre i rischi a livelli accettabili. La valutazione dei rischi deve essere una fase del processo di analisi dei rischi funzionalmente separata dalla fase di gestione dei rischi. Tuttavia, una correlazione stretta fra chi valuta e chi gestisce i rischi è fondamentale per garantire una interrelazione logica fra i risultati delle valutazioni dei rischi e le misure sanitarie che possono essere applicate.

Infine, la comunicazione dei rischi rappresenta lo scambio interattivo di informazioni sui rischi fra chi si occupa della loro valutazione e gestione e le altre parti interessate. Nella comunicazione dei rischi, le parti interessate variano in base alle competenze e ai problemi sanitari in questione. Quando sono prese in considerazione le zoonosi, le parti interessate da coinvolgere comprendono tutte le popolazioni a rischio, tramite meccanismi di consultazione che possono variare fra i vari paesi.

Oltre all’utilizzo delle tecniche di valutazione dei rischi nel contesto del commercio internazionale di animali e prodotti di origine animale, l’analisi dei rischi quantitativa (QRA) rappresenta uno strumento di previsione formidabile per la stima degli effetti delle possibili opzioni di riduzione dei rischi, tramite il confronto dei risultati dei rischi in scenari diversi e alternativi (cosiddetti “what if scenarios”). Ciò contribuisce a supportare il processo decisionale da parte di chi gestisce i rischi, nell’ambito della scelta delle strategie di controllo delle patologie, per un utilizzo più efficiente delle risorse.

## **Il ruolo della sorveglianza nel processo di analisi dei rischi**

L'Organizzazione mondiale della sanità definisce la “sorveglianza” come la raccolta sistematica e continua e l’analisi di dati, nonchè la divulgazione puntuale delle informazioni a coloro che devono conoscerle al fine di prendere le misure adeguate. In altre parole, la sorveglianza epidemiologica è necessaria per programmare, selezionare, gestire e valutare le azioni rilevanti per la gestione delle condizioni sanitarie delle popolazioni. In particolare, i compiti principali dei sistemi di sorveglianza possono essere riassunti come segue:

- monitorare le dinamiche delle condizioni sanitarie allo scopo di intervenire con misure preventive tempestive;
- valutare le misure già attuate in relazione alla prevenzione e al controllo delle patologie;
- ottimizzare l'utilizzo delle risorse disponibili.

Poiché i servizi veterinari nella maggior parte dei paesi devono affrontare limitazioni di budget notevoli, le indagini epidemiologiche attive forniscono informazioni affidabili sulle condizioni sanitarie delle popolazioni animali e umane e sull'esistenza e influenza dei possibili fattori di rischio, concentrando le risorse nelle aree di maggior rischio potenziale di introduzione o diffusione.

Inoltre, la raccolta di dati epidemiologici, tramite sistemi di sorveglianza efficaci e basati su protocolli diagnostici convalidati e standardizzati, è fondamentale per ogni valutazione scientifica del rischio di introduzione e/o diffusione di patogeni in specifiche aree geografiche. L'esistenza di sistemi di sorveglianza armonizzati è fondamentale per effettuare valutazioni dei rischi basate rigorosamente su dati di fatto e realmente a sostegno del processo decisionale. La disponibilità di informazioni sulla comparsa e sulle dinamiche dell'infezione, che derivano da sistemi di sorveglianza armonizzati, e basate su procedure diagnostiche confrontabili e su definizioni di “caso” standard, rappresenta il presupposto per la valutazione dell'esposizione al rischio della popolazione animale e umana ad un certo patogeno.

## **Necessità di reti internazionali di sorveglianza**

La globalizzazione di prodotti, materie prime e processi, e la diffusione di malattie contagiose emergenti e di infezioni trasmesse da vettori non consentono di avere approcci univoci a livello nazionale per gli interventi di controllo sulle patologie di origine animale e in ambito di sicurezza alimentare. Diverse crisi globali (ad esempio, la sindrome respiratoria acuta grave - SARS, l'influenza aviaria) o regionali (ad esempio, l'alta epizootica- FMD - e la bluetongue nell'Unione Europea) hanno indicato chiaramente ancora una volta la necessità di un approccio transfrontaliero ed internazionale nella sorveglianza e nel controllo delle patologie.

Le zoonosi virali trasmesse da artropodi comprese nel presente progetto rappresentano un gruppo importante di infezioni per le persone e per gli animali, ed una minaccia sanitaria emergente nel bacino del Mediterraneo e nei paesi limitrofi. Queste patologie, in quanto infezioni trasmesse da vettori, non possono essere prevenute soltanto

attraverso una politica di controllo del commercio di animali. Inoltre, le singole misure nazionali tendono ad essere completamente inadeguate e dipendono molto spesso dalle diverse scelte effettuate in altri paesi vicini. Ciò comporta che gli obiettivi a medio e lungo termine per la sorveglianza e la prevenzione di CCHF e WND devono comprendere la creazione di reti internazionali di sorveglianza che comprendano tutti i paesi a rischio del Mediterraneo e delle aree circostanti.

La creazione di reti internazionali di sorveglianza rappresenta, quindi, la condizione necessaria per mettere a disposizione le informazioni epidemiologiche essenziali in modo da garantire l'efficacia degli studi sulla valutazione dei rischi ad una scala adeguata e per prendere decisioni basate su informazioni scientifiche nella valutazione di opzioni per la riduzione dei rischi.

La creazione di reti ha un valore aggiunto di per sé, a condizione che tutti i partecipanti condividano le informazioni in modo trasparente. L'esistenza di reti internazionali, in grado di raccogliere i dati epidemiologici sulle patologie animali e basate sulla volontà di scambiare informazioni fra i partner, facilita il commercio stesso di animali e prodotti di origine animale e l'applicazione armonica di principi riportati nell'Accordo SPS dell'Organizzazione mondiale del commercio.

Anche la Commissione Europea sta considerando seriamente l'importanza della promozione delle reti internazionali a sostegno delle strategie per il controllo delle patologie animali. Nel contesto della Politica europea di vicinato (ENP), la Commissione Europea considera che: "per i prodotti agricoli, la convergenza con le norme dell'Unione europea per i controlli sanitari e fitosanitari migliora notevolmente il commercio reciproco fra i paesi partner e l'Unione europea. Lo scambio di informazioni e la collaborazione nel quadro di organizzazioni internazionali responsabili del controllo delle patologie degli animali e delle piante e il miglioramento delle condizioni sanitarie a tutela dei consumatori sono prioritari" (Commissione Europea, 2004). Allo stesso modo, nel quarto piano strategico dell'OIE 2006-2010 (OIE, 2005) sono formulate raccomandazioni specifiche per il raggiungimento degli obiettivi seguenti:

- migliorare la raccolta e la diffusione di informazioni sulla salute animale, per un migliore controllo delle patologie e per la sicurezza dei prodotti di origine animale;
- rafforzare i sistemi di sorveglianza delle patologie animali, comprese quelle degli animali acquatici e selvatici;
- migliorare la conoscenza dei sistemi di sorveglianza epidemiologica sulle patologie animali e l'armonizzazione dei sistemi di sorveglianza a livello regionale.

In particolare, la creazione di gemellaggi e di reti fra laboratori di riferimento dell'OIE, centri di collaborazione dell'OIE e laboratori nazionali sono alcuni degli strumenti possibili per raggiungere gli obiettivi strategici suddetti.

## Cenni storici sull'infezione da virus del Nilo occidentale

Il virus responsabile della West Nile Diseases (WNV) è uno dei più diffusi flavivirus (*Flaviviridae*) trasmesso dalle zanzare, che si è propagato recentemente in Sud America, il suo sesto continente. È stato isolato per la prima volta da una donna in stato febbrile nel distretto del Nilo occidentale dell'Uganda nel 1937 ed è emerso negli ultimi anni nelle regioni temperate dell'Europa e dell'America settentrionale, rappresentando una minaccia per la salute pubblica, la salute equina e, dalla fine degli anni Novanta, per la salute delle popolazioni aviarie (Owen *et al.*, 2006).

### Storia

Dalla prima volta in cui è stato isolato nel 1937, il WNV ha mostrato due diverse evoluzioni: nel tempo e nello spazio e nella sua patogenicità.

#### Evoluzione spazio-temporale

L'evoluzione spazio-temporale dei focolai riportati di febbre del Nilo occidentale (WND) è rappresentata nella **Figura 2**. Si vede chiaramente che in realtà solo poche aree molto limitate nel mondo possono essere considerate esenti dalla patologia.

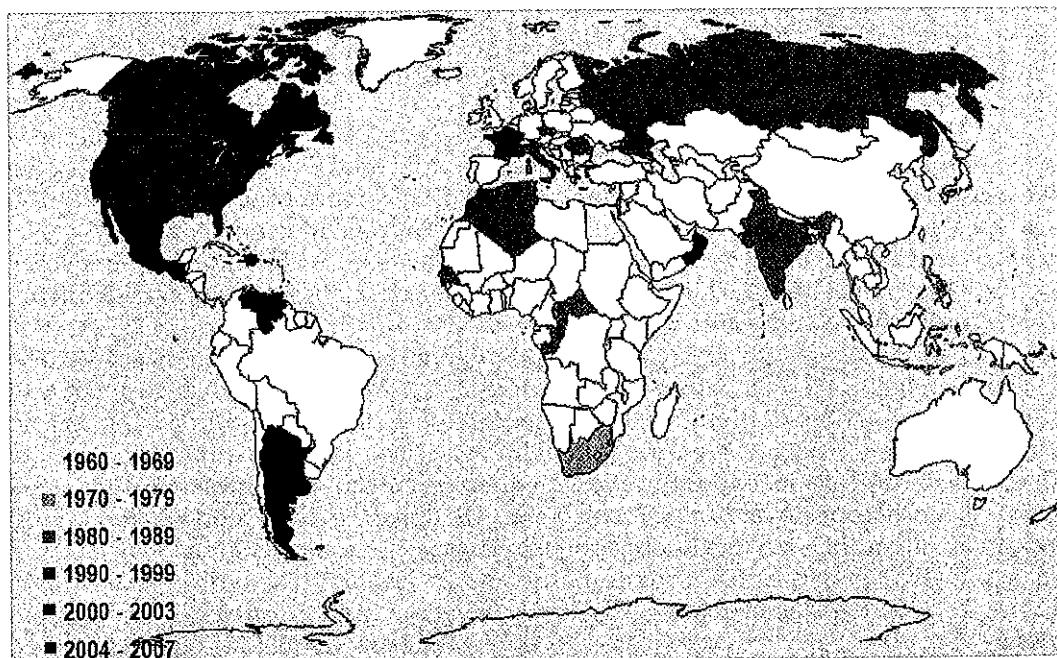


Fig. 2: Distribuzione spazio-temporale dei casi riportati di febbre del Nilo occidentale.

### Evoluzione della patogenicità

In Israele, verso la fine degli anni Cinquanta, il virus aveva già dimostrato la sua capacità di causare sintomi neurologici gravi nelle persone. All'inizio degli anni sessanta furono notati per la prima volta casi di encefalite equina in Egitto e in Francia, mentre negli anni settanta si verificò un'epidemia di vaste proporzioni, con oltre 10.000 casi umani in Sudafrica. Nel 1996 il virus si presentava come la causa principale di encefalite arbovirale nelle aree urbane in Romania, in cui causò 393 casi umani accertati di encefalite con 16 decessi. Dal 1996 in poi, epidemie di WND sono state registrate nelle persone e nei cavalli con un aumento della frequenza nel bacino del Mediterraneo, in Russia e in Australia. Nel 1997 è stato isolato in Israele un nuovo ceppo del virus che causava la malattia in giovani oche domestiche e lo stesso ceppo è poi stato identificato come responsabile della pandemia avvenuta dal 1999 negli U.S.A. ed in Nord America. Questo nuovo ceppo è altamente patogeno per l'uomo, i cavalli e per gli uccelli, ed in particolare per i corvidi, considerati i serbatoi dell'agente (Komar *et al.*, 2003).

## **Descrizione clinica**

### Equini

L'infezione da WNV negli equini varia dall'encefalite asintomatica all'encefalite letale. Un numero maggiore di cavalli infettati sviluppa l'encefalite rispetto all'uomo. Nei cavalli infettati in natura, l'infezione da WNV causa, di solito, modifiche comportamentali (sonnolenza, svogliatezza, apprensione, depressione o iper-eccitabilità) e i segni neurologici comprendono la formazione di fascicoli nei muscoli e la paresi o paralisi degli arti (Komar *et al.*, 2003, Cantile *et al.*, 2000).

### Specie aviarie

Gli uccelli infetti da WNV mostrano di uno spettro di condizioni cliniche che variano dall'assenza di sintomi alla morte. Segni generali di infezione comprendono letargia e postura anomala. I corvidi sono altamente suscettibili all'infezione con esiti spesso fatali. A causa dei livelli elevati di infezione naturale negli uccelli durante le epidemie epizootiche, la malattia in uccelli siero-positivi può essere difficile da attribuire all'infezione da WNV (Komar *et al.*, 2003).

### Altri vertebrati

Casi letali di WND sono stati riportati in circa 20 specie di mammiferi e oltre 30 sono state trovate sieropositive. Alcuni rettili, come gli alligatori, sono morti a causa della malattia e gli anfibi sono diventati sieropositivi dopo l'infezione (Komar *et al.*, 2003).

### Uomo

L'infezione da WNV nell'uomo causa una serie di manifestazioni che variano dal-

l'infezione sub-clinica alla morte. La patologia è classificata di solito in forme diverse, in particolare febbre (casi senza manifestazioni neurologiche che non richiedono ricovero ospedaliero), meningite (infiammazione meningea, compresa rigidità della nuca), encefalite (encefalopatia, livelli di coscienza depressi o alterati, letargia o cambiamenti di personalità) e paralisi flaccida acuta (inizio acuto di debolezza degli arti con progressione marcata in 48 ore) (Sejvar *et al.*, 2003).

## Epidemiologia

Il WNV è trasmesso principalmente dalle punture di zanzare infette che acquisiscono il virus nutrendosi del sangue di uccelli infetti. L'intensità della trasmissione all'uomo e agli animali dipende dall'abbondanza e dalle caratteristiche alimentari delle zanzare infette, dall'ecologia locale e dal comportamento che influenza l'esposizione dell'uomo e degli animali alle zanzare. L'incidenza dell'infezione da WNV mostra una componente stagionale chiara nelle zone temperate in Europa, nel bacino del Mediterraneo e dell'America settentrionale, con un picco da luglio a ottobre. Nell'uomo, il trapianto di organi, le trasfusioni di sangue, l'esposizione professionale, l'allattamento al seno e probabilmente la trasmissione transplacentare possono rappresentare una via alternativa della trasmissione del virus. Negli uccelli, l'infezione può avvenire se si nutrono di carcasse di altri uccelli infetti. Il virus è trasmesso principalmente dalle zanzare del genere *Culex*, ma anche altri generi possono essere vettori. In Europa e in Africa, i vettori principali sono *Cx. pipiens*, *Cx. univittatus* e *Cx. antennatus*. In Nord America, il WNV è stato isolato da 59 diverse specie di zanzare con ecologia e comportamento diversi. L'intensità della trasmissione di WNV è determinata principalmente dall'abbondanza di zanzare portatrici e dalla prevalenza dell'infezione nelle zanzare. Anche se le zecche, sia morbide sia dure, possono essere infettate da WNV, è improbabile che abbiano un ruolo significativo nella sua trasmissione. Gli uccelli sono considerati il serbatoio più importante dell'infezione ed in alcune specie è possibile lo sviluppo di una viremia sufficientemente elevata e lunga da essere in grado di sostenere il ciclo di trasmissione. Fra queste, specie appartenenti agli ordini dei Passeriformi, Caradriiformi, Strigiformi e Falconiformi hanno dimostrato di sviluppare livelli di viremia sufficienti ad infettare la maggior parte delle zanzare che si nutrono del loro sangue. Invece, specie appartenenti a Colombiformi, Piciformi e Anseriformi non hanno dimostrato di sviluppare livelli sufficienti di viremia ad infettare le zanzare. È stato riscontrato che alcuni passeracei, compreso il passero domestico (*Passer domesticus*), sono altamente infettivi per le zanzare e potrebbero essere importanti ospiti amplificatori. L'importanza degli uccelli nella dispersione del virus è ancora in discussione. I movimenti locali di uccelli stanziali, non migratori e di uccelli che effettuano migrazioni a lungo raggio possono contribuire alla diffusione del WNV. L'uomo e il cavallo sono descritti comunemente come ospiti finali, poiché non sono in grado di raggiungere livelli sufficienti di viremia in grado di consentire la trasmissione ai vettori. Anche nel caso di ospiti immuno-compromessi, dove potrebbe esistere la possibilità di trasmissione del virus, la probabilità che abbiano un ruolo significativo nella trasmissione del WNV è molto bassa (riportato in Komar *et al.*, 2003).

## Sorveglianza

Oltre alla valutazione dei sintomi clinici, sia nell'uomo che negli animali, il laboratorio ha un ruolo importante nei programmi di sorveglianza dell'infezione da WNV. Poichè il WNV è mantenuto in natura dagli uccelli, il suo monitoraggio tramite l'utilizzo di uccelli sentinella sembra essere il metodo migliore. Le infezioni da WNV in tali animali dovrebbero verificarsi con maggiore frequenza (quindi prima) rispetto alla malattia nell'uomo e nei cavalli. Specie aviarie diverse dai polli sono state utilizzate come sentinelle per il monitoraggio dell'arbovirus: fagiani, specie del genere *Colinus*, la quaglia giapponese, i piccioni e gli uccelli selvatici. Sono stati utilizzati anche mammiferi, come i cavalli, per lo stesso scopo. In ogni caso, quando deve essere pianificato un sistema sentinella, la scelta degli animali da utilizzare (mammiferi e/o uccelli) deve considerare il punto nella catena di trasmissione che s'intende monitorare e che è l'obiettivo della nostra sorveglianza.

Anche se il monitoraggio della mortalità nelle popolazioni di corvi è stato utilizzato come sistema di sorveglianza utile in aree in cui si registra elevata mortalità negli uccelli. Comunque, tale sistema non può essere applicato a tutte le situazioni epidemiologiche, specialmente laddove non è stato dimostrato un collegamento chiaro fra WND e la mortalità degli uccelli.

Il monitoraggio delle zanzare per individuare la presenza di WNV è un'altra possibilità. Tuttavia, è necessario considerare che la probabilità di isolare il virus da campioni di zanzare prelevate sul campo è molto bassa, a meno che non sia in corso un'epidemia.

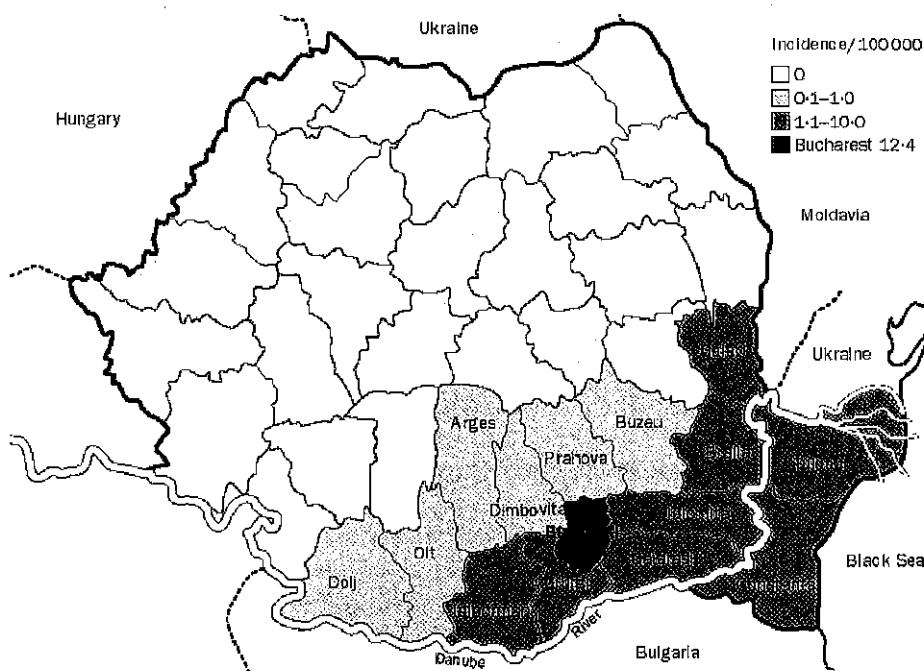
Nell'America settentrionale è stato realizzato un sistema di monitoraggio efficiente nell'uomo tramite il monitoraggio delle donazioni di sangue realizzato direttamente dalla Croce Rossa.

Un programma di sorveglianza corretto deve comprendere più di uno dei metodi summenzionati, senza dimenticare però le limitazioni nella corretta valutazione dei risultati della sorveglianza, in funzione dei metodi utilizzati in laboratorio per la diagnosi sierologica dell'infezione. Poichè il WNV appartiene al complesso sierologico dell'encefalite giapponese, si hanno reattività sierologiche crociate con diversi Flavivirus collegati filogeneticamente, come i virus Usutu e Marburg in Europa e nell'area del Mediterraneo, e il virus dell'encefalite di Saint Louis in America settentrionale (riportato in Komar, 2001).

## West Nile Disease in Romania

L'epidemia del 1996 in Romania ha rappresentato la prima segnalazione di WND in Europa. Un totale di 797 pazienti su 835 (92%) ricoverati negli ospedali con sintomi neurologici sospetti corrispondevano alla definizione di caso di febbre del Nilo occidentale (WNF). Campioni sono stati raccolti da 441 di questi pazienti e da altri 68 i cui sintomi non corrispondevano alla definizione dei casi accertati. Su un totale di 393 pazienti venne diagnosticata la WNF da esami di laboratorio. I sintomi progredirono in coma nel 13% dei casi, causando 17 decessi (percentuale di fatalità fra i casi accertati del 4,3%). Sulla base del rilievo dei sintomi clinici di malattia l'epidemia iniziò il 15 luglio e si concluse il 12 ottobre, con un picco nella prima settimana di settembre. I primi casi confermati furono notificati a

Bucarest, ed, in altre aree, tre settimane più tardi. L'epidemia rimase confinata alla pianura del Danubio, a sud est della catena dei Carpazi con i livelli più alti d'infezione nelle aree lungo il Danubio (Figura 3). Dai casi riportati in maniera aneddotica in Bulgaria, la malattia si diffuse su grandi distanze verso sud, comprendendo un'area ancora maggiore del delta del Danubio. La specie di zanzara predominante a Bucarest era *Culex pipiens*, e rappresentava il 94% di tutte le zanzare raccolte (Tsai et al., 1998).



**Fig. 3:** Incidenza dell'encefalite da WND per distretti, 1996 (Tsai et al., 1998).

Fu riscontrato che l'infezione da WNV era associata alla presenza di zanzare all'interno delle abitazioni e nelle cantine allagate dei condomini (Han et al., 1999). La prevalenza serica fu determinata anche nelle specie di uccelli. Trenta su 73 specie aviarie domestiche e 1 su 12 specie di uccelli selvatici furono riscontrate sierologicamente positive. Non furono riscontrati aumenti di casi di encefalite equina (Tsai et al., 1998).

Se si escludono le indagini riportate da Tsai et al. e da altri autori (Savage et al., 1999) che indicano gli anticorpi contro il WNV in polli, anatre, oche, pavoni e tacchini, non esistono resoconti riguardanti la sorveglianza strutturata sugli animali in Romania. Nel biennio 2006 e 2007 è stata realizzata un'indagine sierologica allo scopo di valutare la possibile circolazione del virus fra i cavalli. In totale sono stati analizzati 578 sieri tramite un kit commerciale di ELISA indiretta, registrando una prevalenza sierologica del 39,8%. I risultati dello studio sono riportati nelle Figure 4 e 5 (gentilmente fornite dalla Dottoressa Ionescu come parte della sua presentazione orale in occasione della riunione di progetto a Tulcea, Romania).

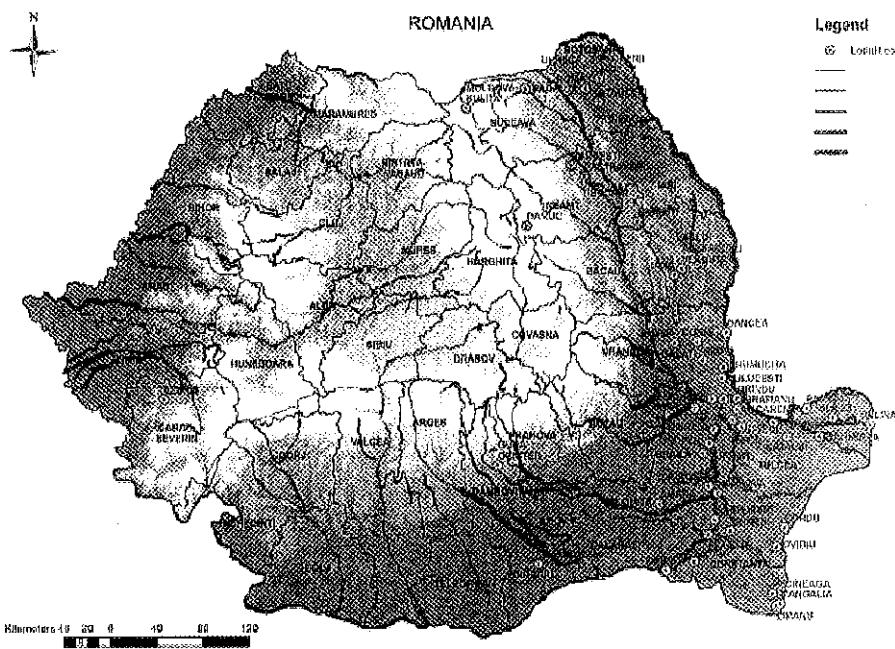


Fig. 4: Indagine sierologica sui cavalli (2006-2007). Siti di raccolta dei campioni.

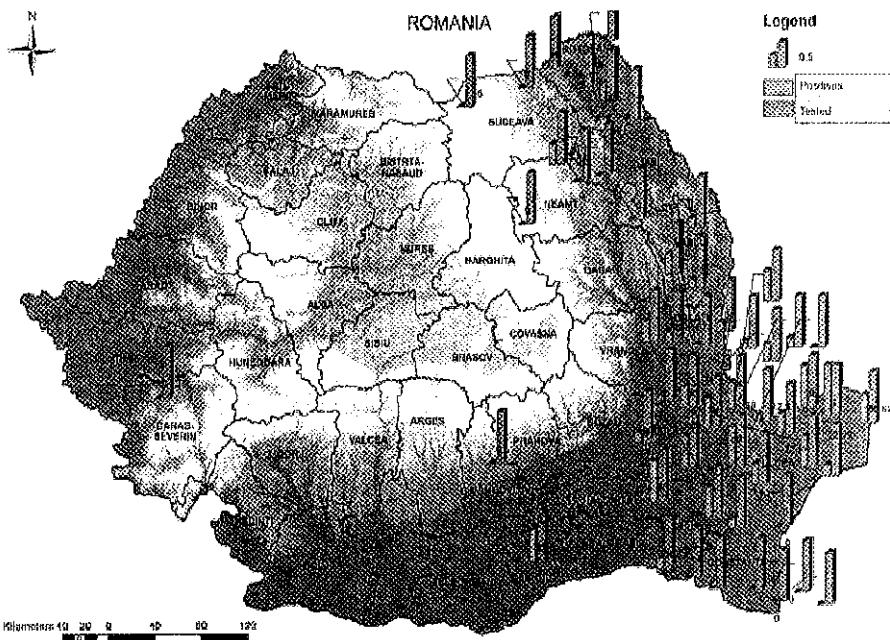


Fig. 5: Indagine sierologica sui cavalli (2006-2007). Percentuale di campioni positivi e negativi.

## West Nile Disease in Italia

Un'epidemia di encefalite da WNV si è verificata in Italia alla fine dell'estate del 1998, fra i cavalli dell'area umida della Valdinievole, in Toscana. La patologia colpì 14 cavalli, 6 dei quali morirono. Anche se il numero di casi confermati notificati era limitato, la letalità osservata nell'epidemia in Italia (43%) è stata simile a quanto osservato in Francia nel 2000 ed in USA all'inizio dell'epidemia. Di fatto, lo studio sierologico ha dimostrato che il WNV si è diffuso in un'area più ampia, anche in assenza di sintomi clinici (Aautorino et al., 2002). Dal 2001 il governo italiano ha posto in atto un sistema di sorveglianza per il monitoraggio dell'introduzione e della circolazione del WNV. I risultati hanno mostrato una prevalenza molto limitata di anticorpi contro il virus WNV nei cavalli in alcune delle aree sottoposte al controllo; nelle stesse aree è stato individuato anche un livello molto basso di anticorpi contro i flavivirus in polli sentinella. Il basso livello di risposta degli anticorpi, il mancato isolamento del virus e la completa assenza di sintomi clinici sia nei cavalli che negli uccelli non hanno consentito di determinare se il virus circola in quelle aree ad un basso livello di endemicità oppure se la presenza degli anticorpi è il risultato della circolazione di alcuni flavivirus simili al WNV, con il quale cross-reagiscono.

## West Nile Disease negli Stati Uniti

La WND è stata notificata la prima volta nella città di New York nel 1999, diffondendosi poi rapidamente in tutte le direzioni attraverso il continente nordamericano, verso la costa occidentale, verso la parte meridionale del Canada e verso l'America Centrale (Figura 6). Ad oggi è stato stimato che il WNV ha infettato circa 1 milione di americani, uccidendone quasi 800 (Reisen et al., 2007).

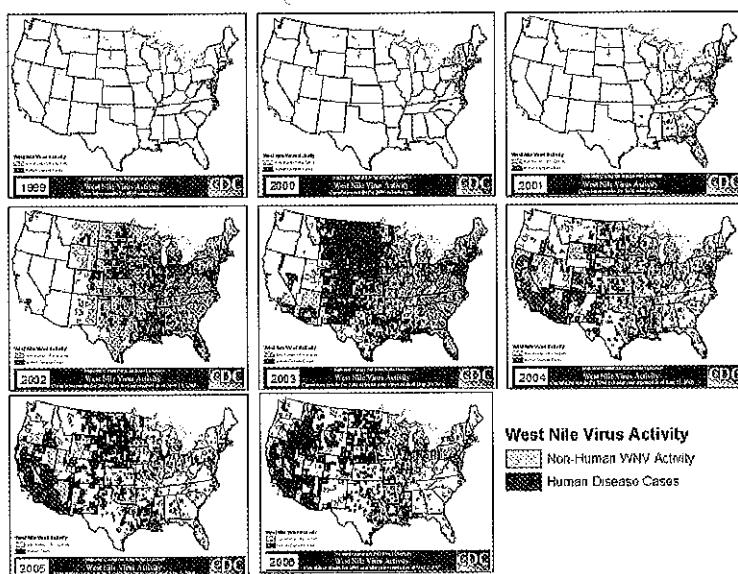


Fig. 6: Diffusione della WND negli USA dal 1999 al 2006 (fonte CDC).

Dal 1999 sono stati riportati circa 20.000 casi umani di WND negli USA, di cui più di 8600 hanno causato patologie neuroinvasive con quasi 800 vittime. Le epidemie del 2002-2003 hanno rappresentato i maggiori focolai di meningite o encefalite mai riportati nell'emisfero occidentale. Da uno screening dei donatori di sangue è stato stimato che 735.000 persone erano state infettate dal WNV (Kramer *et al.*, 2007).

La grande quantità di studi effettuata negli USA è utile per spiegare meglio alcuni degli aspetti dell'epidemiologia del WNV; di fondamentale importanza per la sorveglianza e il controllo del virus.

Le analisi delle sequenze genetiche dei primi virus WNV isolati in America settentrionale hanno indicato una identità del 99,8% con i ceppi circolanti in Israele. Il virus ha, quindi, subito poche variazioni e questa potrebbe essere una possibile spiegazione del grado di adattamento agli ospiti aviari e alle zanzare attraversando il continente nordamericano. Di solito, le epidemie localizzate negli equini e nell'uomo comprendono un anno di introduzione virale con circolazione minima del virus, la sopravvivenza durante l'inverno, l'amplificazione esplosiva a livelli epidemici l'anno seguente e poi una rapida diminuzione (Reisen *et al.*, 2007).

Per spiegare queste caratteristiche epidemiche, sono stati implicati vari meccanismi:

- sopravvivenza durante l'inverno di zanzare femmine infette, che si infettano per trasmissione verticale o da piccole assunzioni di sangue nel periodo autunnale di pre-diapausa; indipendentemente però dalla modalità di infezione, queste zanzare terminano la diapausa durante la primavera e sono in grado di rinnovare la trasmissione;
- trasmissione continua nel corso dell'anno. A latitudini più calde sono state individuate specie di uccelli e di zanzare infette da WNV durante tutto l'anno, consentendo il continuo rinnovo della trasmissione;
- infezioni croniche negli uccelli. Anche se i corvidi di solito soccombono al ceppo NY99 del virus, diverse specie di uccelli si ristabiliscono dalla malattia e possono mantenere il virus nei propri organi;
- uccelli migratori: diverse specie sono suscettibili all'infezione da WNV, permettendo al virus di superare l'inverno a latitudini meridionali e di essere trasportato successivamente verso nord in primavera.

Ad oggi sembra che, affinchè un'epidemia abbia luogo, è necessario avere un numero elevato di ospiti infetti (cioè livelli elevati di amplificazione fra gli uccelli), poiché il vettore primario *Culex pipiens pipiens* sembra non essere molto recettivo all'infezione (Reisen *et al.*, 2007).

## Breve storia della Crimean-Congo Haemorrhagic fever

La Crimean-Congo haemorrhagic fever (CCHF) è una zoonosi trasmessa da zecche, oggetto di notevoli preoccupazioni per la salute pubblica in molte regioni del mondo, comprendenti Africa, Medio Oriente, Europa meridionale e orientale e Asia occidentale. La CCHF è causata da un virus appartenente al genere *Nairovirus* (famiglia *Bunyaviridae*) ed è trasmessa da zecche ixodidi, in particolare da quelle appartenenti al genere *Hyalomma*.

Nel XII° secolo venne descritta una sindrome emorragica nell'attuale Tagikistan con segni comprendenti la presenza di sangue in urina, retto, gengive, vomito, espettora-to e nella cavità addominale. L'artropode causa della malattia era descritto come duro, piccolo, simile alle zecche e conosciuto normalmente come parassita di un uccello nero. In epoca moderna, la CCHF fu descritta per la prima volta come entità clinica nel 1944-45, quando circa 200 militari sovietici furono infettati mentre fornivano assistenza a contadini in Crimea nel corso della Seconda guerra mondiale. Il virus fu isolato dal sangue e da tessuti dei pazienti tramite inoculazione intracerebrale di ratti bianchi neonati nel 1967. In seguito, è stato dimostrato che il virus responsabile dei casi in Crimea era antigenicamente indistinguibile dal virus del Congo, isolato nel 1956 da un paziente febbrile nel Congo belga (attuale Repubblica Democratica del Congo). Ciò ha determinato l'attuale nome di Crimean-Congo haemorrhagic fever (Ergonul, 2006). La patologia clinica nell'uomo si manifesta inizialmente come malattia febbrile acuta seguita da una sindrome emorragica fatale con tassi di mortalità fino al 50% (Swanepoel *et al.*, 1987).

Le persone possono essere infettate anche tramite contatto diretto con sangue o tessuti di persone o animali infetti (Swanepoel, 1995). La natura altamente patogena del virus causa talvolta epidemie nosocomiali gravi (Pappaioanou, 2004).

Il numero di ospiti potenziali del virus della CCHF è elevato e riflette le diverse preferenze alimentari delle zecche vettori immature e adulte. Anticorpi contro il virus della CCHF sono stati individuati in animali domestici e selvatici, fra cui lepri, ricci, roditori, chiroterri e grandi mammiferi come le giraffe e i rinoceronti. La fonte più importante di trasmissione del virus è rappresentata dalle zecche immature del genere *Hyalomma*, che si nutrono del sangue di piccoli vertebrati. Una volta infettata, la zecca rimane infetta per tutta la vita (trasmissione trans-stadiale) e la zecca matura può trasmettere l'infezione a grandi vertebrati, come gli animali domestici. I ruminanti domestici, come bovini, ovini e caprini di solito manifestano viremia per una settimana dopo l'infezione; durante il periodo viremico, il sangue e i tessuti freschi sono infettivi al contatto.

Il ruolo esatto degli uccelli non è stato ancora ben definito; in ogni continente, decine di specie di uccelli funzionano da ospiti alle nove o dieci specie di zecche, che si alimentano sugli uccelli negli stadi immaturi dello sviluppo (Chevalier *et al.*, 2004). Nonostante l'osservazione del fatto che il livello di viremia negli uccelli è solitamente basso o impercettibile, è stato dimostrato per gli uccelli selvatici africani che si alimentano a terra che il virus può essere replicato e trasmesso dagli uccelli infetti (Zeller *et al.*, 1994) alle zecche *Hyalomma marginatum rufipes*, ad indicare che il ruolo degli uccelli nell'epidemiologia del virus potrebbe essere duplice (cioè il trasporto di zecche infette e la diffusione locale/a lunga distanza del virus da parte degli uccelli infetti). Recentemente, è stato affermato che gli uccelli che migrano dalla Russia trasportando le zecche addosso attraverso il Mar Nero sarebbero la causa dell'epidemia del 2002 in Turchia (Karti *et al.*, 2004).

Il virus può essere mantenuto nelle popolazioni di zecche nei periodi interepizotici tramite vari meccanismi, attraverso la trasmissione trans-stadiale e trans-ovarica, e il "co-feeding" di zecche aggregate sullo stesso ospite. Le epidemie avvengono di solito durante i periodi di massima attività delle zecche *Hyalomma* (stagione calda e secca) (Swanepoel, 2006). I casi di CCHF sono distribuiti principalmente fra le persone in età lavorativa attiva esposte alle popolazioni di zecche. Il gruppo maggiormente a rischio è rappresentato dagli agricoltori che vivono nelle aree endemiche; la maggior parte dei casi colpiti si occupa di agricoltura e/o allevamento. Quasi il 90% dei casi nella recente epidemia in Turchia era rappresentato da agricoltori (Ergonul *et al.*, 2006).

Anche se non è dimostrato che il virus determina la malattia negli animali, le persone infettate dal virus della CCHF hanno avuto spesso contatto con bestiame e altri animali infetti (Hoogstraal, 1979). Anche i veterinari e i lavoratori nei mattatoi che operano su grandi animali domestici rappresentano un gruppo a rischio; l'acquisizione del virus di solito avviene durante la macellazione degli animali. Il contatto con sangue viremico di animali infetti durante la macellazione è la fonte di infezione più plausibile, ma anche l'esposizione alle zecche durante tale processo è probabile, almeno in alcuni casi (Ergonul *et al.*, 2006). La carne stessa non è a rischio perché il virus è inattivato da acidificazione post-macellazione dei tessuti e comunque non sopravvivrebbe alla cottura. Le attività di trekking, campeggio e altre attività in campagna rappresentano ulteriori fattori di rischio per l'esposizione alle zecche. La percentuale dei casi nei due sessi varia fra i paesi, in base alla partecipazione delle donne ai lavori agricoli. Epidemie sono state riportate recentemente in Sudafrica con la macellazione di struzzi fortemente infestati da zecche (Fisher-Hoch *et al.*, 1992). È stato riportato che l'infezione è stata acquisita per contatto con il sangue dello struzzo oppure schiacciando inavvertitamente zecche infette mentre si scuoavano gli struzzi.

L'epidemiologia molecolare dei virus di CCHF africani e asiatici isolati è stata studiata da Burt e Swanepoel nel 2005 (Burt e Swanepoel, 2005). Sono state esaminate le relazioni filogenetiche di 70 virus della CCHF isolati dalle aree meridionali, centrali e occidentali dell'Africa, dal Medio Oriente e dalla Grecia utilizzando dati in sequenza stabiliti per una regione del segmento S del genoma. L'analisi ha rivelato fino al 18% di differenze genetiche. La topologia genetica dei virus indica l'esistenza di tre gruppi di virus: A, B e C. All'interno del gruppo A, ci sono due *clade*: uno africano e uno prevalentemente asiatico comprendente isolati del virus da Pakistan, Cina, Iran, Russia e Madagascar. Il gruppo B comprende isolati dall'Africa meridionale e occidentale e dall'Iran; il gruppo C comprende un solo isolato dalla Grecia. Nonostante il potenziale di dispersione del virus fra l'Africa e l'Eurasia, si nota che la circolazione del virus è largamente compartmentalizzata nei due continenti e la conclusione è che la distribuzione geografica dei gruppi filogenetici è collegata alla distribuzione e alla dispersione delle zecche vettori del virus (Paweska, 2007).

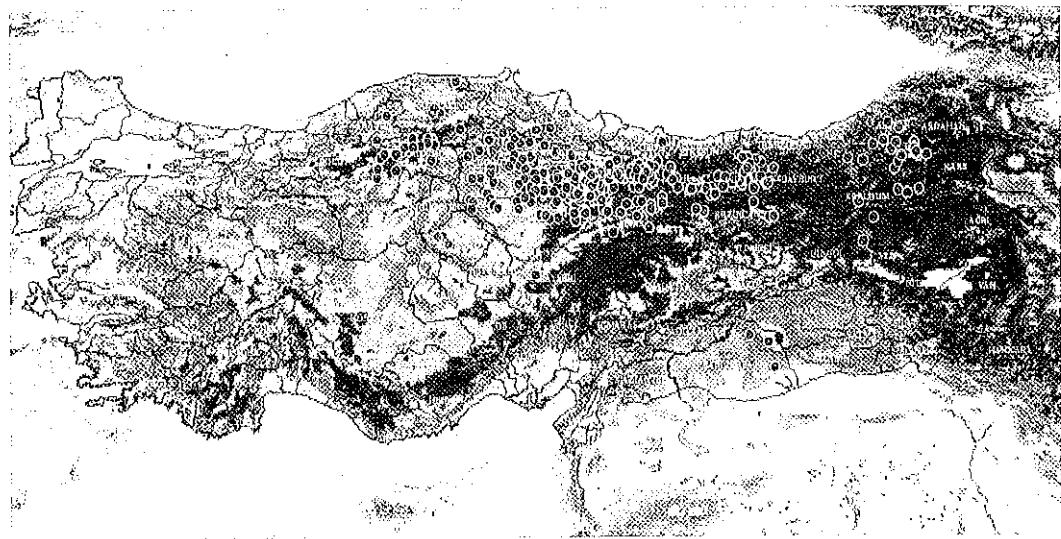
In Italia la CCHF non è stata mai riportata, ma la presenza e la distribuzione geografica (sotto il 47°N) delle zecche *Hyalomma* nel territorio italiano pone il paese in una situazione di alto rischio.

## **La CCHF nei Balcani e in Medio Oriente**

Dal 1997 al 2004 si sono verificati in totale 124 casi in Bulgaria, 27 dei quali fatali. Durante la primavera e l'estate del 2001 (Papa, *et al.*, 2004) si sono verificati otto casi di febbre emorragica della Crimea in Albania (Papa, *et al.*, 2002), mentre 133 casi con-

fermati di CCHF (33 fatali) sono stati riportati in Kosovo dal 1995 al 2006 (Dedushaj, e Humoli 2006).

Un'epidemia grave è in corso in Turchia dal 2002 con 1.103 casi clinici e 59 casi con esito fatale registrati fino al 2006 (Uzun, 2006). Più recentemente (2007), sono stati riportati 133 casi clinici con 7 casi letali (ISID, 2007).



**Fig. 7:** Casi umani di febbre emorragica della Crimea in Turchia (Uzun, 2006).

Più di recente, a marzo e aprile 2008, sono stati riportati sei casi umani probabili di CCHF (Kunchev e Kojouharova, 2008) nel comune di Gotse Delchev, nel distretto di Blagoevgrad, Bulgaria, un'area al confine con Grecia e la Repubblica di Macedonia (FYROM). I casi si presentavano con diverse manifestazioni cliniche. Il primo caso era un uomo di circa quaranta anni che si è ammalato il 20 gennaio 2008 con febbre, mialgia e dolore articolare, diarrea e debolezza. Il 25 marzo si è sviluppata epistassi con abbondanti emorragie. È stato applicato un tamponamento presso il reparto di otorinolaringoiatria dell'ospedale locale. Il paziente è stato ricoverato nel reparto malattie infettive con sospetto di febbre emorragica. Le sue condizioni sono peggiorate rapidamente (leuco e trombocitopenia gravi) e l'uomo è deceduto il 26 marzo. Il secondo caso era un uomo di circa trent'anni della stessa città. La malattia è iniziata il 22 gennaio con febbre e debolezza. Il 26 marzo aveva espettorato con sangue ed è stato ricoverato nel reparto malattie infettive. Il 27 marzo è stato trasferito presso l'ospedale per le malattie infettive di Sofia. È stato dimesso poco dopo in buone condizioni. Entrambi i pazienti, il 17 e 18 marzo, avevano staccato a mani nude zecche da vacche nel paese vicino e avevano partecipato alla macellazione di un vitello infetto. Le autorità veterinarie avevano riportato che il vitello aveva avuto un'intossicazione da tannini. Il terzo caso era un'operatrice sanitaria di circa cinquant'anni che aveva prestato soccorso al primo paziente colpito da emorragie. È stata ricoverata il 2 aprile e dimessa in buone condizioni una settimana dopo. Il quarto caso era una donna di circa quarant'anni della stessa città, legata alla famiglia del primo paziente. Il 10 aprile è stata ricoverata con febbre, debolezza, mal di stomaco, nausea e vomito. Era entrata in contatto con il

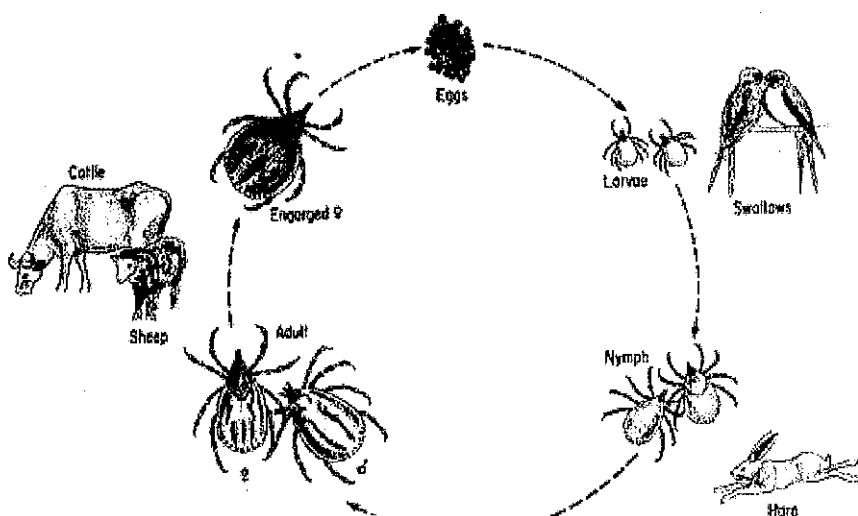
sangue del primo caso, quando aveva avuto un'emorragia nasale prima di essere portato in ospedale. È stata dimessa dall'ospedale in buone condizioni il 18 aprile. Altri due casi erano di altre frazioni del comune e non avevano collegamenti con i casi appena descritti. Un uomo di circa quaranta anni si è ammalato il 31 marzo ed un altro di circa sessant'anni si è ammalato il 9 aprile. Entrambi avevano quadri clinici simili: febbre, dolori muscolari e articolari, debolezza ed emorragie nasali. È stato accertato che entrambi avevano tolto zecche a mani nude da bovini.

La CCHF è stata anche riportata in Medio Oriente. A novembre 1994 è stata riportata un'epidemia di CCHF fra i lavoratori di un mattatoio negli Emirati Arabi Uniti (Khan, et al., 1997). Nel 1990 la CCHF è stata importata dal commercio di pecore dall'Africa all'Arabia Saudita occidentale (El-Azazy, et al., 1997). La patologia è stata riportata anche in Oman, Iran e Iraq (Williams, et al., 2000; Mardani, et al. 2003; Tantawi, et al., 1980).

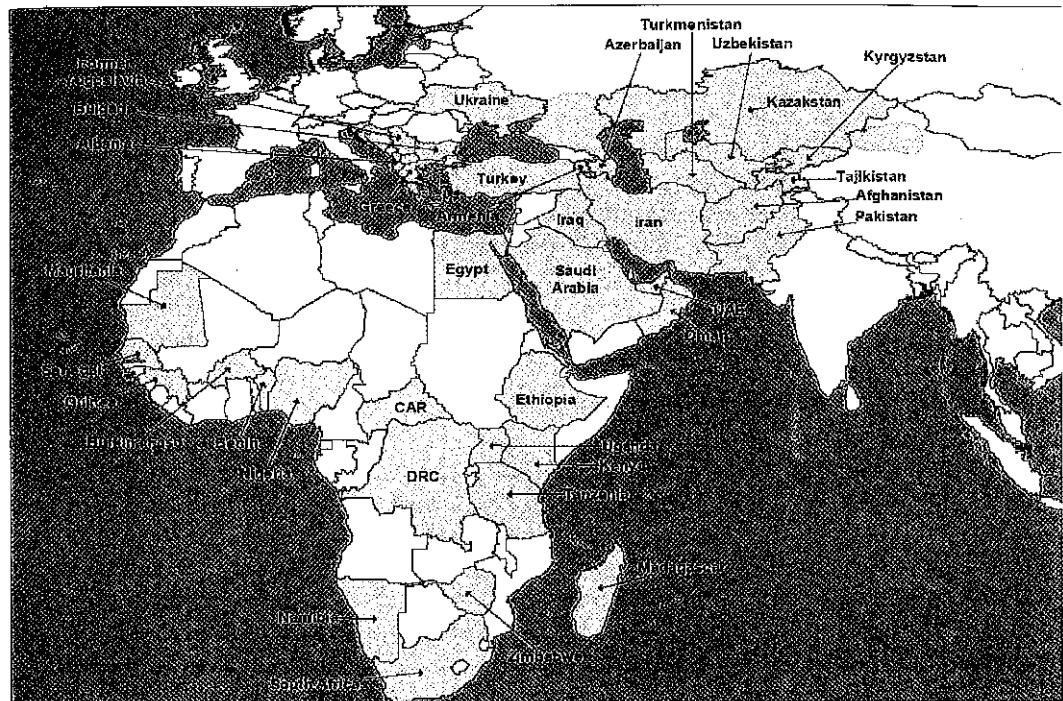
### **La CCHF nelle Repubbliche dell'ex Unione Sovietica**

La CCHF è anche riportata in Ucraina, nella regione meridionale della Federazione russa e nelle Repubbliche caucasiche e asiatiche dell'ex Unione Sovietica.

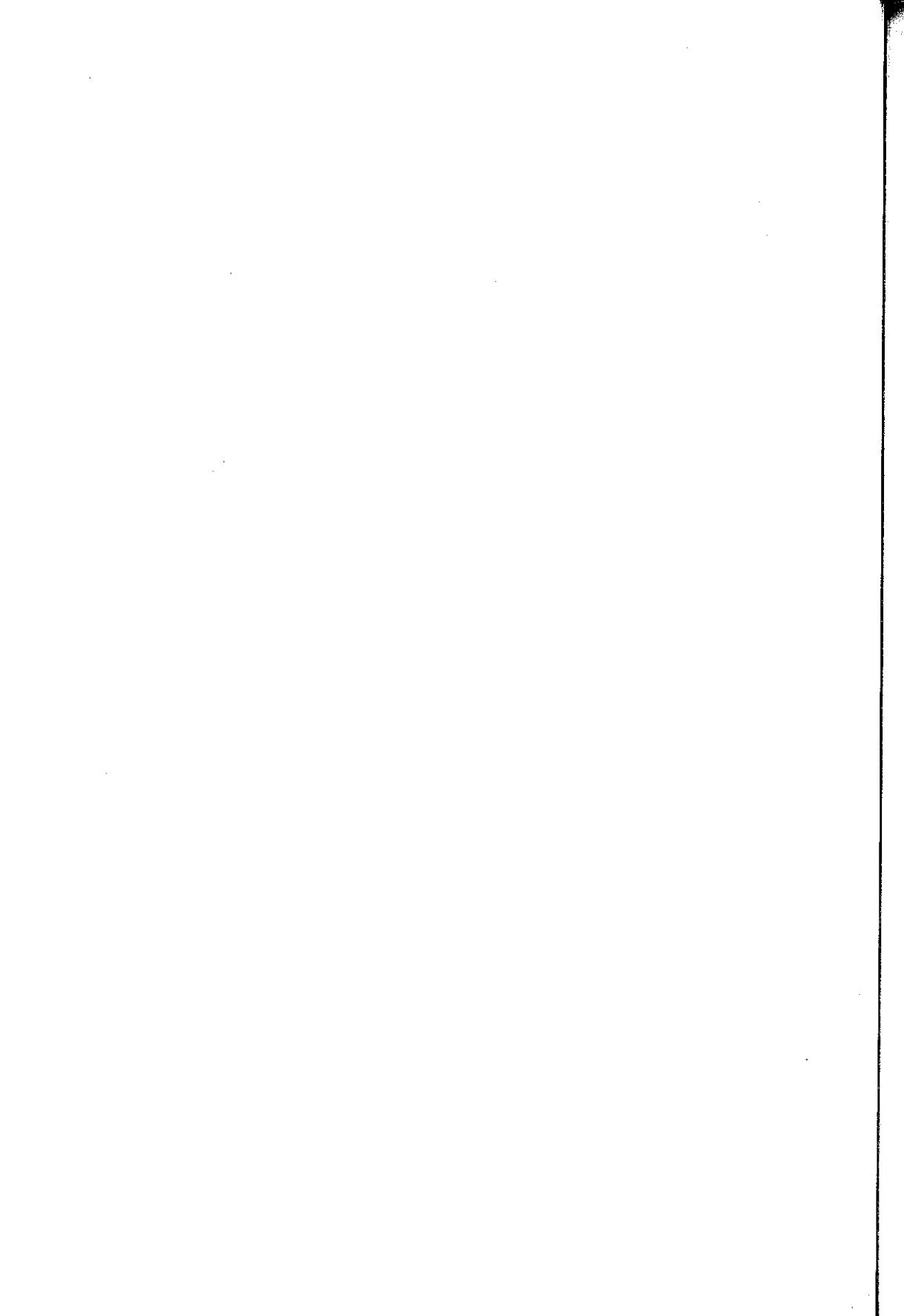
In particolare, dopo un'assenza prolungata (circa 30 anni) la CCHF è ricomparsa nel territorio di Stavropol, dove sono stati registrati casi di questa infezione, confermati in laboratorio, nell'estate del 1999-2000. Alla fine della stagione del 1999, anticorpi nei confronti del virus della CCHF sono stati individuati fra allevatori di bovini in tutte le 7 regioni ispezionate del territorio. In base ai dati sulla determinazione della contaminazione del virus da zecche ixodidi (nel 2000), fu stabilita la circolazione di CCHF nel territorio di 14 regioni sulle 24 previste. È stato dimostrato che il fattore fondamentale del peggioramento della situazione epidemica è stato l'aumento del numero di zecche *Hyalomma marginatum*, il vettore principale dell'agente che causa CCHF nel sud della Russia (Smirnova, 2005).



**Fig. 8:** Ciclo del virus CCHF (fonte <http://web.uct.ac.za/depts/mmi/stannard/congo.html>)



**Fig. 9:** Distribuzione mondiale del virus CCHF (Swanepoel, 2006).



## Valutazione dei sistemi di sorveglianza esistenti

Nell'ambito di un progetto di cooperazione concomitante per la realizzazione di una rete di sorveglianza per le malattie trasmesse da vettori in alcuni paesi dei Balcani (Albania, Bulgaria, Croazia, Romania), è stato presentato alle autorità nazionali competenti dei quattro paesi un questionario per la valutazione dei sistemi di sorveglianza esistenti per WND e CCHF e la valutazione dei bisogni per la formazione e la diagnosi. Il questionario era suddiviso in tre sezioni:

**Sezione A** nella quale venivano raccolte le informazioni sulle attività di sorveglianza esistenti e sulla diagnosi nell'uomo;

**Sezione B** nella quale venivano raccolte le informazioni sulle attività di sorveglianza e la diagnosi negli animali;

**Sezione C** nella quale venivano raccolte le informazioni sulle attività di sorveglianza entomologica e sull'individuazione del virus nei vettori.

L'analisi dei questionari ha indicato che, nonostante la presenza di WND nell'area dei Balcani, la fonte principale di informazioni è rappresentata dalla sorveglianza passiva. Nessuno dei quattro paesi realizzandola in atto al momento un sistema di sorveglianza entomologica e sierologica attiva nell'uomo e negli animali, anche laddove sono riportati casi umani confermati.

I dati ottenuti dai questionari sulla WND hanno evidenziato che le competenze e le informazioni non sono armonizzate nei vari paesi, mentre la maggior parte dei questionari su CCHF non hanno fornito dati sulle informazioni generali e le capacità di diagnosi. Inoltre, per entrambe le patologie la "definizione di caso" è fornita solo dalla Romania per la sorveglianza delle patologie nell'uomo.

Infine, poiché le zoonosi sono trasmesse da vettori, il miglioramento delle relazioni fra le diverse figure scientifiche (veterinari, medici, entomologi, zoologi, statistici, epidemiologi, ecc.) coinvolte nella gestione della salute degli ecosistemi, non deve essere sottovalutato. In molti paesi dell'area a rischio, le procedure di collaborazione formalizzate e i protocolli per lo scambio di dati non sono presenti fra i settori della sanità pubblica e della salute animale. Quindi, la progettazione e la creazione di qualunque sistema di sorveglianza per queste patologie trasmesse da vettore devono prendere in considerazione la necessità di sviluppare queste procedure comuni e i protocolli di scambio dei dati.

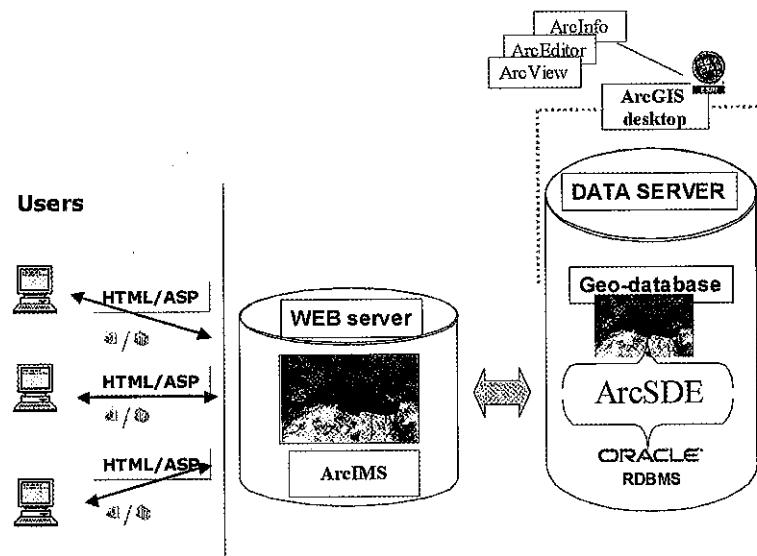
Un'analisi più dettagliata e completa delle risposte ai questionari è presentata in altri capitoli.



# Descrizione dell'applicazione GIS su base internet

## Architettura del sistema

Il database GIS è accessibile da parte di tutti gli utenti autorizzati tramite un browser internet generico. Due server ospitano tutte le applicazioni e funzioni GIS (**Figura 10**), come segue:



**Fig. 10:** Architettura dell'applicazione GIS su base internet.

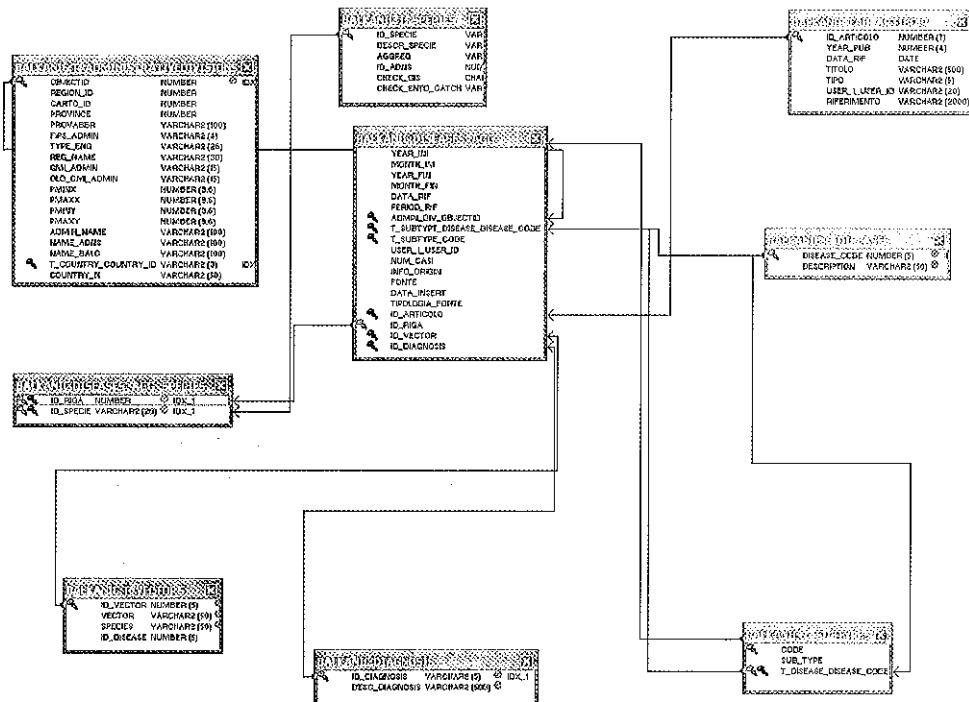
- Un server GIS, che raccoglie progetti ArcIMS™ 3.1 (ESRI® – Environmental Systems Research Institute Inc.) sviluppati tramite una personalizzazione di visualizzatore html per la pubblicazione di mappe, dati, immagini e pagine Java™ script (JSP).
- Un server dati contenente ArcSDE™ (ESRI®) e un sistema gestionale dei database relazionali Oracle™ (relational management system – RDBMS), in cui sono memorizzati i dati spaziali e alfanumerici. ArcSDE™, il portale fra ArcIMS™ e RDBMS, è utilizzato per condividere e gestire i dati spaziali e ottimizzare l'accesso contemporaneo alle specifiche geografiche da parte di diversi utenti.

Il pacchetto software desktop ESRI® ArcGIS è utilizzato per sviluppare e gestire il geo-database. Si tratta di un pacchetto integrato di applicazioni GIS comprendenti ArcView, ArcEditor e ArcInfo.

## **Struttura del database e tipologie di informazioni raccolte**

La **Figura 11** descrive la struttura del database realizzato per la raccolta e la memorizzazione di informazioni sulla comparsa di WND e CCHF. Sono state utilizzate fonti multiple di dati per avere un'immagine chiara e aggiornata della comparsa di queste due infezioni in Europa e nel bacino del Mediterraneo:

- i dati sulle epidemie di WND nei cavalli sono estratti dai sistemi internazionali di informazione sulle patologie dell’OIE: WAHIS (World Animal Health Information System = Sistema Informativo Mondiale per la Sanità Animale);
  - le informazioni sui casi umani presenti in documenti pubblicati e in altri sistemi di informazione non ufficiali, come ad esempio ProMed, sono state prese in considerazione per completare le informazioni sulla comparsa dell’infezione da WNV negli animali e descrivere la distribuzione geografica dell’infezione da CCHF. Infatti, la CCHF negli animali non induce segni clinici e, quindi, le informazioni sulla comparsa di questa infezione negli animali possono derivare solo da attività di sorveglianza specifiche, spesso effettuate come conseguenza della comparsa di casi umani. I dati che derivano da sistemi di notificazione non ufficiali o documenti pubblicati sono chiaramente distinti dagli altri.



**Fig. 11:** Struttura del database dove sono memorizzate le informazioni sulla comparsa di WND e CCHF.

Le informazioni sul paese e il mese della comparsa della malattia sono registrate in tutti i casi, mentre le informazioni seguenti sono raccolte quando disponibili (**Figura 12**):

- ceppo virale responsabile;
- tipo di diagnosi (clinica, sierologica, virologica, clinica combinata/laboratorio);
- numero di casi;
- possibile origine (punture dei vettori, contatto con animali malati, trasfusione di sangue, ecc.).

Quando la fonte delle informazioni è un documento pubblicato, viene fornito il riferimento completo, compreso l'abstract (**Figura 13**).

Inoltre, il database consente di aggiungere ulteriori informazioni sulle specie vettori principali coinvolte nella trasmissione dei virus nelle diverse aree geografiche.

Gli sforzi realizzati nella standardizzazione dei dati epidemiologici principali non sono conclusi e sono in atto ulteriori attività per comprendere anche informazioni armonizzate sui risultati dei piani di sorveglianza nazionali.

The screenshot displays a web-based application for managing epidemiological data. At the top, there's a navigation bar with links for 'Maps', 'Tables', 'Articles', and 'Epidemiological Information'. Below the navigation, there's a search bar and a link to 'Help'.

The main area shows two forms side-by-side:

- Epidemiological information**: A form for entering query criteria. It includes fields for 'Year Start' (2005 to 2007), 'Month Start' (December), 'Year End' (..... to .....), 'Month End' (February), 'Date of Event' (Calendar to .....), 'Period of Event' (.....), 'Source' (a dropdown menu with options: OFFICIAL, UNOFFICIAL, OFFICIAL, Unknown, and a 'New' button), and buttons for 'Find', 'Clear', and 'New'.
- Epidemiological information**: A form for entering values for a new record. It includes fields for 'Country(\*)', 'Region Name', 'Admin. Name', 'Disease(\*)', 'Subtype', 'Vector', 'Diagnosis(\*)', 'Article', 'Year Start', 'Month Start', 'Year End', 'Month End', 'Date of Event' (Calendar), 'Number of Cases', 'Period of Event', 'Info Origin', 'Source', and 'Reference'. There are also 'Insert' and 'Clear' buttons.

**Fig. 12:** Tipologie di informazioni registrate per descrivere la comparsa di WND e CCHF.

**EPIDEMIOLOGICAL DATA**

[Maps](#)  
[Tables](#)  
[Articles](#)

### Epidemiological Information

The screenshot shows the WAHIS system's interface for managing epidemiological data. At the top, there's a navigation bar with links for Maps, Tables, Articles, and Epidemiological Information. Below this, a main title 'Epidemiological Information' is displayed with a large downward-pointing arrow. The central part of the screen is occupied by a detailed form titled 'Epidemiological information'. This form includes fields for entering query criteria (Year Start, Month Start, Year End, Month End, Date of Event, Period of Event, Source) and values for new records (Country, Region Name, Admin. Name, Disease, Subtype, Vector, Diagnosis, Article, Year Start, Month Start, Year End, Month End, Date of Event, Number of Cases, Period of Event, Info Origin, Source, Reference). A dropdown menu for 'Source' is open, showing options like 'OFFICIAL', 'UNOFFICIAL', 'OFFICIAL', and 'Unknown'. At the bottom of the form, there are 'Insert' and 'Clear' buttons.

Fig. 13: Dati dei documenti pubblicati.

## L'applicazione GIS internet

È stata sviluppata un'applicazione GIS internet per mappare la distribuzione spaziale di WND e CCHF in Europa e nel bacino del Mediterraneo (**Figura 14**). Gli utenti possono filtrare i dati secondo criteri multipli (periodo di tempo, specie coinvolte, ceppi) e possono accedere ai dati direttamente tramite le mappe (**Figura 15**). Sono disponibili gli strumenti geografici tipici (zoom avanti, zoom indietro, panoramica, selezione oggetto, calcolo della distanza, creazione di buffer) per l'analisi dei dati e la personalizzazione delle mappe (**Figura 16**).

I dati sull'infezione da WNV e CCHF sono rappresentati in base al paese e secondo la prima suddivisione amministrativa, quando questo livello di dettaglio è disponibile. Al momento, la possibilità di inserire la latitudine e la longitudine dei focolai non è stata presa in considerazione. Di fatto, per quanto riguarda le informazioni sulle epidemie di WND nei cavalli, i dati attualmente disponibili nel WAHIS sono scarsi a

causa dell'inclusione recente del WND nell'elenco delle patologie notificabili all'OIE. La stragrande maggioranza dei dati su WND e CCHF deriva, quindi, da documenti pubblicati o dal sistema ProMed e le informazioni su latitudine e longitudine degli eventi notificati sono estremamente rare.

Uno studio specifico sarà condotto in futuro per verificare il livello di fattibilità dell'assegnazione dei valori stimati di latitudine e longitudine per ogni episodio di WND e CCHF, in base alle informazioni comprese nel documento pubblicato e/o nella relazione di notifica.

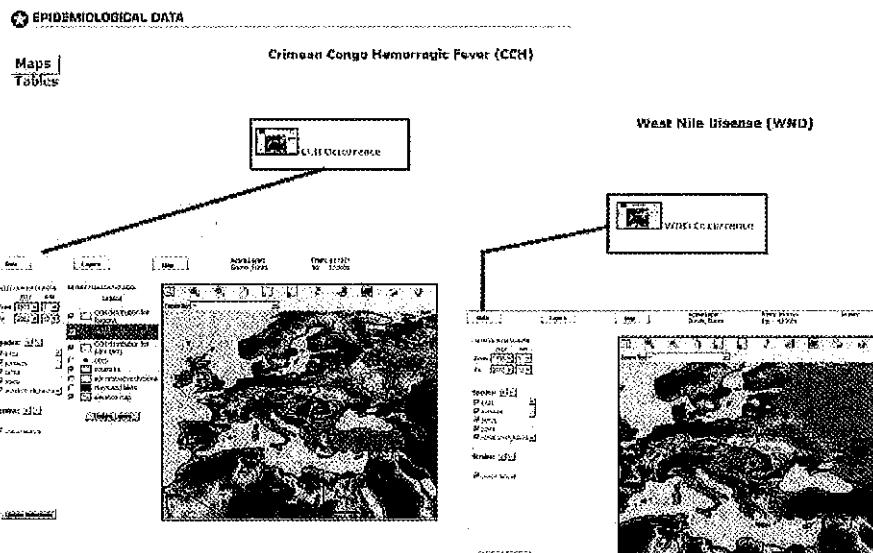


Fig. 14: Distribuzione spaziale di WND e CCHF in Europa e nel bacino del Mediterraneo.

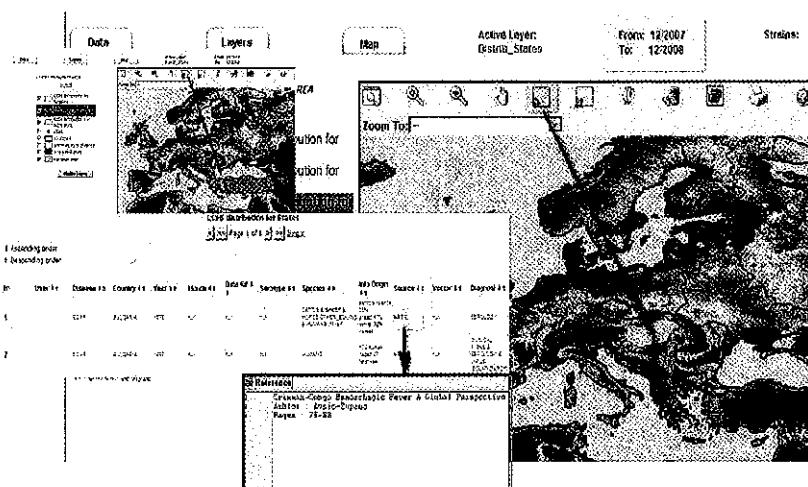
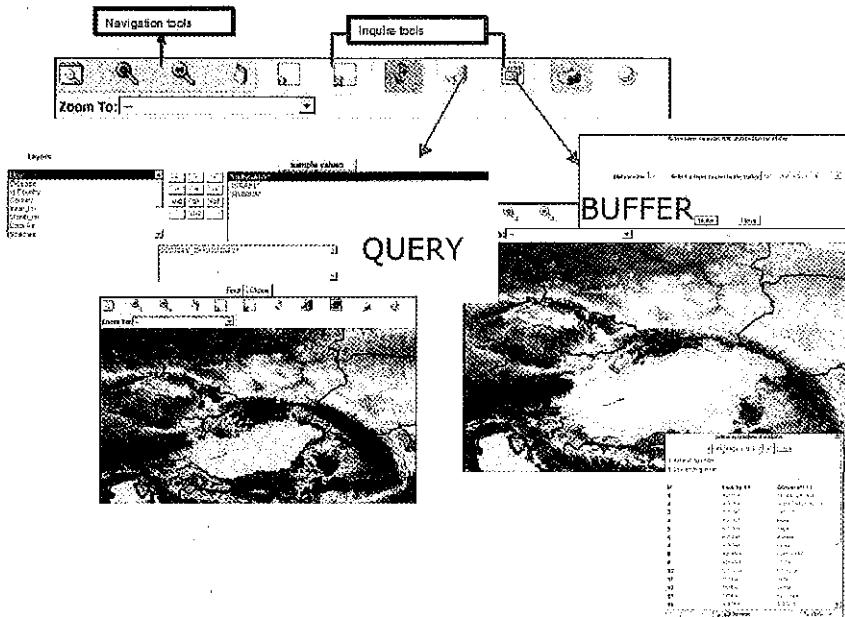


Fig. 15: Accesso ai dati tramite le mappe.



**Fig. 16:** Strumenti geografici (zoom avanti, zoom indietro, panoramica, selezione oggetto, calcolo della distanza, creazione di buffer) disponibili sulla mappa.

## Conclusioni

Nonostante il rischio che episodi di WND e CCHF si verifichino nelle aree dei Balcani e del Mediterraneo, un quadro chiaro della distribuzione geografica (presenza/assenza) di queste infezioni non è ancora totalmente disponibile, anche se la circolazione del virus e la presenza dei vettori è stata dimostrata in varie zone dell'area. Di conseguenza, la necessità di sviluppare un sistema di sorveglianza armonizzato che coinvolga tutte le aree a rischio e migliori le capacità di diagnosi fra i paesi deve essere un obiettivo prioritario.

La creazione di una rete GIS su internet può rappresentare il primo passo per la standardizzazione delle informazioni epidemiologiche principali sulle zoonosi e per la pianificazione delle attività di sorveglianza armonizzate. Infatti, la raccolta delle informazioni disponibili esistenti rappresenta la condizione indispensabile per una prima analisi della situazione epidemiologica a livello internazionale e per formulare possibili criteri di sorveglianza delle patologie.

Però, è necessario ricordare che la definizione standardizzata di *caso* rappresenta una condizione di base per la creazione di qualunque sistema di sorveglianza armonizzato.

Per quanto concerne le definizioni di caso nell'uomo, la Decisione della Commissione 2002/253/CE (Commissione Europea, 2002) indica la definizione di CCHF:

- Descrizione clinica: malattia con inizio graduale che si presenta con febbre alta acuta, brividi, mialgia, nausea, anoressia, vomito, mal di testa e mal di schiena. Possono seguire manifestazioni emorragiche.
- Criteri di laboratorio per la diagnosi: isolamento del virus, rilevazione dell'acido nucleico del virus CCHF, sierologia positiva, con possibile comparsa ritardata nel corso della malattia.

Una definizione di caso umano di WNF è stata sviluppata dal Centers for Diseases Control and Prevention (CDC) ([http://www.cdc.gov/ncphi/disss/nndss/casedef/arboviral\\_current.htm](http://www.cdc.gov/ncphi/disss/nndss/casedef/arboviral_current.htm)). In particolare, la definizione di caso sviluppata dal CDC si riferiscono a diverse patologie arbovirali domestiche neuroinvasive e non neuroinvasive, comprese quelle da WNF, e si basano sui criteri seguenti:

- **Criteri clinici.** La patologia neuroinvasiva prevede la presenza di febbre e almeno uno degli elementi seguenti, in base a documentazione medica e in assenza di spiegazioni cliniche più plausibili:
  - Stato mentale alterato in modo acuto (esempio, disorientamento, stupore o coma);
  - Altri segni acuti di disfunzione neurologica centrale o periferica (esempio: paresi o paralisi, paralisi nervose, deficit sensoriale, riflessi anormali, convulsioni generalizzate o movimenti anormali);
  - Pleiocitosi (aumento della concentrazione di globuli bianchi nel fluido cerebrospinale [CSF]) associata a stato patologico clinicamente compatibile con meningite (esempio: mal di testa o rigidità del collo).

La patologia non neuroinvasiva prevede almeno la presenza di febbre documentata, misurata dal paziente o dal medico, l'assenza di patologia neuroinvasiva (vedi sopra)

e l'assenza di una spiegazione più possibilmente clinica della malattia. Il coinvolgimento di organi non neurologici (esempio: cuore, pancreas, fegato) deve essere documentato utilizzando criteri clinici e di laboratorio standard.

- **Criteri di laboratorio per la diagnosi.** I casi di patologia arbovirale sono classificati anche come confermati o probabili, in base ai seguenti criteri di laboratorio:
  - Caso confermato: aumento di quattro volte o più del titolo anticorpale nei confronti del virus o isolamento del virus o dimostrazione di sequenze antigeniche virali specifiche o del genoma virale in tessuti, sangue, CSF o altri fluidi corporei, o anticorpi IgM specifici per i virus rilevati nel CSF o anticorpi IgM specifici per i virus e confermati da dimostrazione di anticorpi immunoglobulina sierica G (IgG) specifica per i virus nello stesso campione o in uno successivo da un altro saggio sierologico (esempio: neutralizzazione o inibizione dell'emoagglutinazione).
  - Caso probabile: stabile (incremento inferiore a o pari a due volte il titolo anticorporale) ma titolo elevato di anticorpi sierici specifici per il virus o anticorpi IgM sierici specifici per il virus, ma senza risultati disponibili di un esame di conferma per anticorpi sierici IgG specifici per il virus nello stesso campione o in uno successivo.

Per quanto concerne gli aspetti veterinari, la sorveglianza passiva negli animali può essere utile per individuare casi di WNV sui cavalli, in cui le patologie appaiono spesso con sintomi evidenti. Però, questo tipo di sorveglianza può rivelare la circolazione di WNV solo in fasi finali del ciclo di trasmissione. Al contrario, per la CCHF l'utilizzo della sorveglianza passiva da sola non è utile, poiché la patologia è completamente asintomatica negli animali e la presenza del virus nell'ambiente è individuata dalla presenza sporadica di malattia nell'uomo.

Di conseguenza, è fondamentale sviluppare e attuare un sistema di sorveglianza attiva negli animali e rafforzare i sistemi di informazione relativamente ai casi umani, considerando che i vettori sono presenti in tutta l'area del Mediterraneo ed entrambe le malattie sono sporadicamente riportate (WND) o fortemente sospette (WND, CCHF). Una possibile definizione di caso per gli equini potrebbe essere la seguente:

- **Criteri clinici:**
  - Clinici confermati: segni clinici (atassia, incapacità a mantenere la posizione eretta, stato mentale alterato) oltre a conferma in laboratorio.
  - Clinici probabili: segni clinici ed aggiunta di presenza di titoli anticorpali positivi in un animale non vaccinato.
- **Criteri di laboratorio per la diagnosi.** Isolamento del virus o IgM dal sangue o CSF, o incremento di più quattro volte del titolo anticorporale.

Inoltre, è utile notare che in entrambe le infezioni parte del ciclo di trasmissione dei virus coinvolge specie di animali selvatici: uccelli selvatici per WND e CCHF, e lepri e altri roditori per CCHF. La sorveglianza di WND e CCHF, quindi, deve comprendere anche il monitoraggio di attività rivolte a ospiti vertebrati selvatici, allo scopo di verificare il possibile livello di endemizzazione delle infezioni e determinare la possibile fonte di introduzione e diffusione delle infezioni.

Le attività di sorveglianza sugli animali selvatici implicano la presenza di competenze specifiche ed esperti con riferimento in particolare ad ornitologi e zoologi.

La collaborazione fra servizi medici e veterinari, inoltre, è fondamentale per la sorveglianza e il controllo corretti di queste patologie. Protocolli dettagliati devono essere stabiliti per lo scambio di informazioni fra servizi e per gli interventi in caso di sospetto di trasmissione del virus. Lo sviluppo di sistemi informativi comuni, in cui i dati derivati dalle attività dei servizi di sanità pubblica e veterinari possono migliorare praticamente la collaborazione fra servizi e fornire un quadro epidemiologico completo della situazione.

Nel quadro delle attività da realizzare in collaborazione fra servizi medici e veterinari, lo sviluppo di campagne di educazione sanitaria e comunicazione verso popolazioni a rischio è importantissimo. Devono essere rivolti messaggi chiari e univoci alle popolazioni dai due servizi.

Per quanto concerne la sorveglianza delle infezioni da WNV, devono essere presi in considerazione gli argomenti seguenti:

- Attività di monitoraggio su possibili conversioni sierologiche negli equini in aree a rischio. Considerata la comparsa ritardata negli equini dell'infezione da WNV durante la stagione della trasmissione, le attività di campionamento devono essere pianificate in maniera adeguata per massimizzare la probabilità di individuare l'attività virale.
- Attività di sorveglianza sugli uccelli selvatici, per rivelare incrementi sospetti nella mortalità degli animali o monitorare la diffusione dell'infezione lungo i percorsi migratori degli uccelli. La comparsa di tassi di mortalità anomali in alcune specie di uccelli selvatici (soprattutto corvidi) non è confermata in tutte le aree geografiche. Negli Stati Uniti d'America la sorveglianza degli uccelli morti è considerata utile per determinare quando il WNV si è diffuso in un'area in particolare, considerata la comparsa precoce di questo fenomeno. Però, l'analisi degli uccelli morti non è considerata utile negli USA quando il WNV si è già stabilito in una particolare area. Le attività di sorveglianza sui livelli di infezione negli uccelli selvatici possono essere utili anche per monitorare il possibile ingresso e la diffusione del WNV nella fauna locale. Le aree ecologiche sotto sorveglianza, in questo caso, devono essere quelle coinvolte dai percorsi migratori principali dai paesi in cui l'infezione è presente.
- Utilizzo di gruppi di polli sentinella, esaminati periodicamente, per l'individuazione precoce della circolazione del virus. Esistono alcuni pareri contraddittori riguardanti la sensibilità di questo sistema e la capacità effettiva di individuare la trasmissione del virus in fase precoce. Negli USA la sorveglianza dei polli sentinella è considerata meno utile, perché i casi umani precedono le infezioni nei polli, nella maggior parte dei casi.
- Sorveglianza sulle zanzare, per determinare la distribuzione spaziale e temporale delle principali specie vettori. Oltre alle informazioni epidemiologiche sull'abbondanza e la stagionalità dei vettori derivanti da questo tipo di sorveglianza, l'identificazione degli ospiti vertebrati principali, tramite analisi del DNA del sangue di zanzare ingorgate, può aiutare a costruire mappe del rischio. Inoltre, è stato dimostrato che l'esame sulle zanzare per individuare l'eventuale presenza di WNV è uno strumento utile negli USA per stabilire quando il WNV si difonde ad una nuova area.

Per quanto concerne la sorveglianza della CCHF, devono essere presi in considerazione gli argomenti seguenti:

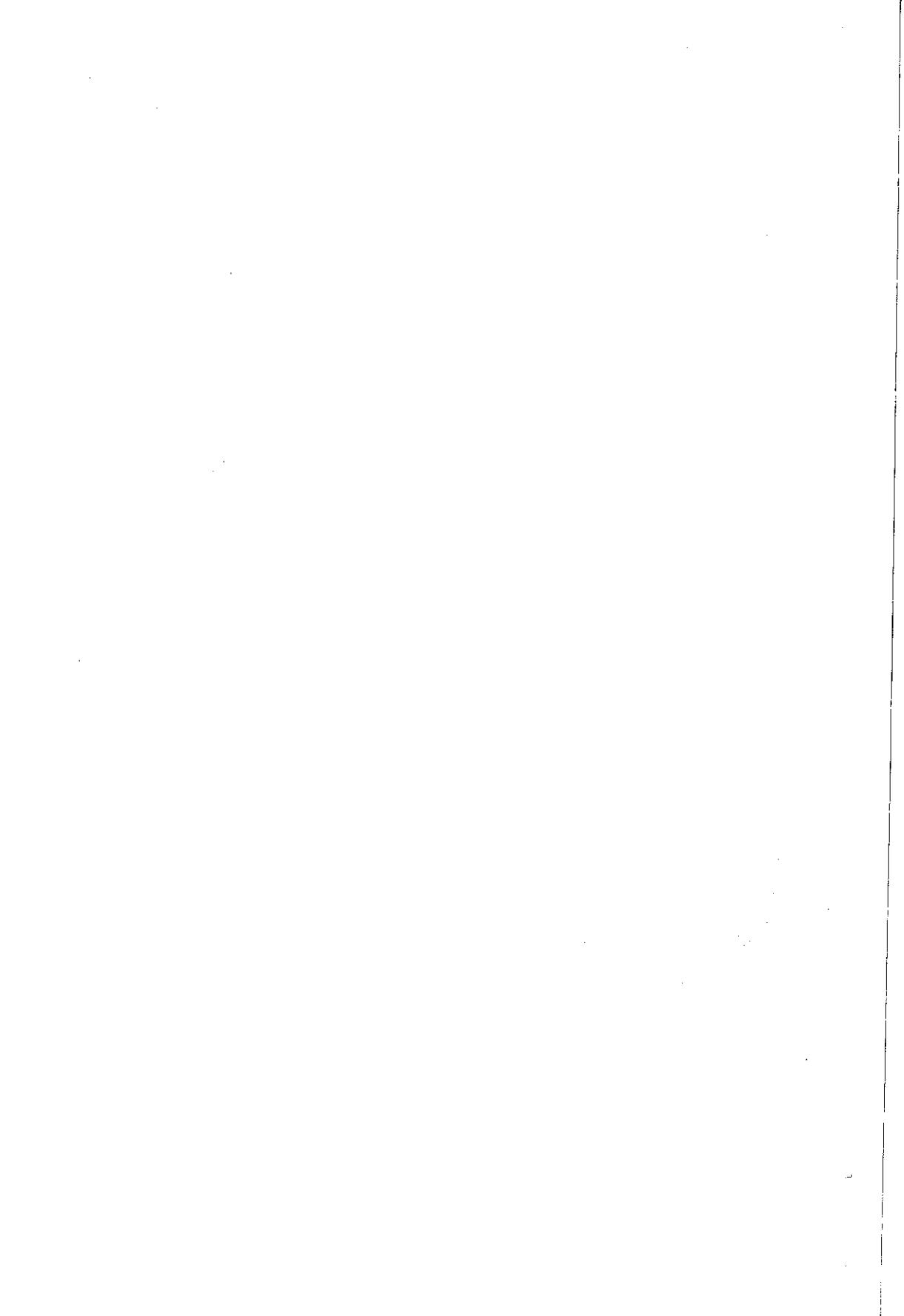
- Studi sierologici trasversali possono essere realizzati su animali domestici (specialmente ruminanti) per definire le aree esposte all'infezione da virus. È dimostrato che la presenza di casi umani fra gli agricoltori e altre persone a contatto con animali è spesso legata ad elevata prevalenza sierologica dell'infezione in bovini, ovini e altri animali domestici. Possono essere utilizzati anche campioni prelevati per altri scopi o nel contesto di altri programmi di sorveglianza.
- Sorveglianza delle infestazioni di zecche negli animali domestici. Episodi gravi di CCHF e altre patologie causate dalle zecche sono spesso collegati alle infestazioni massicce negli animali domestici. L'osservazione regolare e costante sul livello di infestazione da zecche può aiutare a pianificare trattamenti acaricidi nelle aree e nei periodi critici.
- Sorveglianza sulle zecche, per determinare la distribuzione spaziale e temporale delle specie vettori principali. L'attività entomologica, insieme alle analisi virologiche sulle zecche raccolte, aiuta ad identificare le zecche coinvolte nella trasmissione dell'infezione, i loro habitat e le dinamiche stagionali.

## Bibliografia

- Autorino GL, Battisti A, Deubel V, Ferrari G, Forletta R, Giovannini A, Lelli R, Murri S, and Scicluna MT. (2002). West Nile virus epidemic in horses, Tuscany region, Italy. *Emerging Infectious Diseases*, 8, 12, 1372-1378.
- Burt FJ, Swanepoel R. (2005). Molecular epidemiology of African and Asian Crimean-Congo haemorrhagic fever isolates. *Epidemiol Infect*. Aug;133(4):659-66.
- Cantile C, Di Guardo G, Eleni C, and Arispici M. (2000). Clinical and neuropathological features of West Nile virus equine encephalomyelitis in Italy. *Equine Vet J*, 32, 1, 31-35.
- Chevalier V., S. de la Rocque, T. Baldet, L. Vial & F. Roger (2004). Epidemiological processes involved in the emergence of vector-borne diseases: West Nile fever, Rift Valley fever, Japanese encephalitis and Crimean-Congo haemorrhagic fever. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*; 23 (2), 535-555.
- Couissinier-Paris P. (2006). West Nile virus in Europe and Africa: still minor pathogen, or potential threat to public health? *Bull Soc Pathol Exot*, 99, 5, 348-354.
- Dedushaj I., Humolli I. (2006). [http://www.mzcp-zoonoses.gr/pdf/Session1\\_3\\_DedushajCCHF\\_Kosovo.pdf](http://www.mzcp-zoonoses.gr/pdf/Session1_3_DedushajCCHF_Kosovo.pdf) accessed on 24 th January.
- El-Azazy OM, Scrimgeour EM. (1997). Crimean-Congo haemorrhagic fever virus infection in the western province of Saudi Arabia. *Trans R Soc Trop Med Hyg*; 91: 275-78.
- Ergonul O. (2006). Crimean-Congo haemorrhagic fever *Lancet Infect Dis*; 6: 203-14.
- European Commission. (2002). Commission Decision 2002/253/EC of 19 March 2002 laying down case definitions for reporting communicable diseases to the Community network under Decision No 2119/98/EC of the European Parliament and of the Council. *Official Journal of the European Communities*, 3.4.2002, L 86, 44-62.
- European Commission. (2004). European Neighbourhood Policy – Strategy Paper. COM(2004) 373 final.
- Fisher-Hoch SP, McCormick JB, Swanepoel R, Van Middlekoop A, Harvey S, Kustner HG (1992). Risk of human infections with Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in a South African rural community *Am J Trop Med Hyg* 47: 337-45.
- Han LL, Popovici F, Alexander JPJ, Laurentia V, Tengelsen LA, Cernescu C, Gary HEJ, Ion-Nedelcu N, Campbell GL, and Tsai TF. (1999). Risk factors for West Nile virus infection and meningoencephalitis, Romania. *The Journal of Infectious Diseases*, 179, 230-233.
- Hoogstraal H. (1979). The epidemiology of tick borne Crimean-Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe, and Africa. *J Med Entomol*; 15: 307-417.
- Karti S, Odabasi Z, Korten V, Yilmaz M, Sonmez M, Caylan R, et al. (2004). Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey. *Emerg Infect Dis*; 19: 1379 – 1384.
- Khan AS, Maupin GO, Rollin PE, Noor AM, Shurie HH, Shalabi AG, Wasef S, Haddad YM, Sadek R, Ijaz K, Peters CJ, Ksiazek TG (1997). An outbreak of Crimean-Congo hemorrhagic fever in the United Arab Emirates, 1994-1995. *Am J Trop Med Hyg*. Nov; 57(5): 519-25.
- Komar N. (2001). West Nile virus surveillance using sentinel birds. *Ann N Y Acad Sci*, 951, 58-73.
- Komar N. (2003). West Nile virus: epidemiology and ecology in North America. *Advances in Virus Research*, 61, 185-234.

- Kramer LD. (2007). Li J, and Shi P-Y, West Nile virus. Lancet Neurol, 6, 171-181.
- Kunchev A, Kojouharova M. (2008). Probable cases of Crimean-Congo-haemorrhagic fever in Bulgaria: a preliminary report. Rapid communications. Eurosurveillance, Volume 13, Issue 17, 24 April 2008.
- International Society for Infectious Diseases – ISID. (2007). Crimean-Congo hemorrhagic fever – Turkey June 11 th 2007 0.26, promed@promed.isid.harvard.edu PRO/EDR.
- Mardani M, Jahromi MK, Naieni KH, Zeinali M. (2003). The efficacy of oral ribavirin in the treatment of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Iran. Clin Infect Dis; 36: 1613-18.
- OIE World Organisation for Animal Health. (2004). Handbook on Import Risk Analysis for Animals and Animal Products. Introduction and qualitative risk analysis, Vol. I, 60 pp.
- OIE World Organisation for Animal Health. (2005). Fourth Strategic Plan 2006 – 2010, 32 pp.
- OIE World Organisation for Animal Health. (2007). Terrestrial Animal Health Code, 16th Edition, 2007.
- Owen J, Moore F, Panella N, Edwards E, Bru R, Hughes M, and Komar N, Migrating birds as dispersal vehicles for West Nile virus. (2006). EcoHealth DOI: 10.1007/s10393-006-0025-9.
- Papa A, Bino S, Llagami A, Brahimaj B, Papadimitriou E, Pavlidou V. (2002). Crimean-Congo hemorrhagic fever in Albania,. Eur J Clin Microbiol Infect Dis.; 21:603-6.
- Papa A., Christova I., Papadimitriou E., and Antonis Antoniadis Crimean-Congo hemorrhagic fever in Bulgaria (2004). Emerging Infectious Diseases Vol. 10, No. 8, August 2004.
- Pappaioanou M. (2004). Veterinary medicine protecting and promoting the public's health and well-being. Prev. vet. Med; 62 (3), 153-163.
- Paweska J (2007). Epidemiology and laboratory diagnosed cases of CCHF in Southern Africa. Presentation N° 21 006 International Meeting on Emerging Infectious Diseases Vienna 23-25 February 2007.
- Reisen W, and Brault AC. (2007). West Nile virus in North America: perspectives on epidemiology and intervention. Pest Manag Sci, 63, 641-646.
- Savage HM, Ceianu C, Nicolescu G, Karabatsos N, Lanciotti RS, Vladimirescu A, Laiv L, Ungureanu A, Romanca C, and Tsai TF. (1999). Entomologic and avian investigations of an epidemic of West Nile fever in Romania in 1996, with serologic and molecular characterization of a virus isolate from mosquitoes. Am J Trop Med Hyg, 61, 4, 600-611.
- Sejvar JJ, Haddad MB, Tierney BC, Campbell GL, Marfin AA, Van Gerpen JA, Fleischauer A, Leis AA, Stokic DS, and Peterson LR. (2003). Neurologic manifestation and outcome of West Nile virus infection. JAMA, 290, 511-515.
- Smirnova SE. (2005). Circulation of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in the Stavropol territory in the seasons of 1999-2000 Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol;(3):49-53. [Article in Russian].
- Swanepoel R., Shepherd A., Leman P.A., Shepherd S.P., McGillivray G.M., Erasmus M.J., Searle L.A. & Gill D.E. (1987). Epidemiologic and clinical features of Crimean-Congo hemorrhagic fever in southern Africa. Am. J. trop. Med. Hyg; 36 (1), 120-132.
- Swanepoel R. (1995). Nairovirus infections. Exotic viral infections (J.S. Porterfield,

- ed.). Chapman and Hall, London, 285-293.
- Swanepoel R. (2006). [www.mzcp-zoonoses.gr/pdf/Session5\\_1\\_SwanepoelTickEpidemiology.pdf](http://www.mzcp-zoonoses.gr/pdf/Session5_1_SwanepoelTickEpidemiology.pdf) accessed on January 24 th 2008.
- Tantawi HH, Al-Moslih MI, Al-Janabi NY. (1980). Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in Iraq: isolation, identification and electron microscopy. Acta Virol 1980; 24: 464-67.
- Tsai TF, Popovici F, Cernescu C, Campbell GL, and Nedelcu NI. (1998). West Nile encephalitis epidemic in Southeastern Romania. Lancet, 352, 767-771.
- Uzun R. (2006) [http://www.mzcp-zoonoses.gr/pdf/Session1\\_8\\_UzunCCHF\\_Turkey.pdf](http://www.mzcp-zoonoses.gr/pdf/Session1_8_UzunCCHF_Turkey.pdf) accessed on 24 th 2008.
- Williams RJ, Al-Busaidy S, Mehta FR. (2000). Crimean-Congo haemorrhagic fever: a seroepidemiological and tick survey in the Sultanate of Oman. Trop Med Int Health; 5: 99-106.
- Zeller H.G., Cornet J.P. & Camicas J.L. (1994). Experimental transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus by west African wild ground-feeding birds to *Hyalomma marginatum rufipes* ticks. Am. J. trop. Med. Hyg; 50 (6), 676-681.





Working Group n. 2

## **Emerging vector-borne zoonoses**

**Interreg/Cards/Phare Project  
Interregional Center for Food Safety  
and Risk Analysis (SARÀ)**

**"This publication has been realized within the SARÀ Project "Interregional Centre for Food Safety and Risk Analysis" through the Adriatic New Neighbourhood Programme INTERREG/CARDS/PHARE. Project n. 173".**

# **Index**

<b>Abbreviations</b>	<b>48</b>
<b>Members of working group 2</b>	<b>49</b>
<b>Executive summary</b>	<b>51</b>
<b>Introduction</b>	<b>53</b>
<b>The international surveillance networks as supporting tools for risk analysis</b>	<b>55</b>
The risk analysis process	55
Role of surveillance in the risk analysis process	57
Need for international surveillance networks	57
<b>A brief history of west Nile virus infection</b>	<b>59</b>
History	59
Clinical description	60
Epidemiology	61
Surveillance	61
West Nile virus disease in Romania	62
West Nile disease in Italy	63
West Nile virus disease in the United States	65
<b>A brief history of Crimean-Congo haemorrhagic fever</b>	<b>67</b>
CCHF in the Balkans and in the Middle East	68
CCHF in the Republics of the former Soviet Union	70
<b>Assessment of the existing surveillance systems</b>	<b>73</b>
<b>Description of the web-based GIS application</b>	<b>75</b>
System's architecture	75
Database structure and types of information collected	75
The web GIS application	77
<b>Conclusions</b>	<b>81</b>
<b>References</b>	<b>85</b>

## Abbreviations

<b>BT</b>	Bluetongue
<b>BTv</b>	Bluetongue virus
<b>CCHF</b>	Crimean-Congo Hemorrhagic fever
<b>CCHFV</b>	Crimean-Congo Hemorrhagic fever virus
<b>ELISA</b>	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
<b>ENP</b>	European Neighbourhood Policy
<b>HIT</b>	Haemagglutination inhibition test
<b>IFAT</b>	Indirect fluorescent antibody test
<b>OIE</b>	World Organisation for Animal Health
<b>QRA</b>	Quantitative Risk Analysis
<b>RT-PCR</b>	Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction
<b>RT-nPCR</b>	Reverse Transcriptase nested-Polymerase Chain reaction
<b>Real-Time RT-PCR</b>	Real-Time Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction
<b>SPS Agreement</b>	Sanitary and Phytosanitary Agreement
<b>TAHC</b>	Terrestrial Animal Health Code
<b>VN</b>	Virus neutralisation test
<b>WHO</b>	World Health Organisation
<b>WND</b>	West Nile Disease
<b>WNV</b>	West Nile virus
<b>WTO</b>	World Trade Organisation

## **Members of working group 2**

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise  
“G. Caporale”:

**Paolo Calistri, Armando Giovannini**

Emilia-Romagna Region, Regional Veterinary services:

**Francesco Bonicelli, Luisa Loli Piccolomini**

Molise Region, Regional Veterinary services:

**Paolo Silvestri**

Abruzzo Region:

**Rino Di Felice**

Croatian Veterinary Institute:

**Eddy Listes**



## Executive summary

The Working Group 2 on emerging vector-borne zoonoses decided to focus its activities on two major vector-borne zoonoses, West Nile Disease (WND) and the Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF), with the aim of analysing the existing surveillance systems in the Balkan and East Mediterranean countries and to make proposals for harmonized criteria for the surveillance of these emerging vector-borne zoonoses.

The viral arthropod-borne zoonoses included in the present project represent an important group of infections for humans and animals, and an emerging sanitary threat in the Mediterranean Basin and in the neighbouring Countries. These diseases, being vector-borne infections, cannot be prevented through an animal trade control policy only. Moreover, the individual national measures tend to be completely inadequate and they are very often dependent on various choices made in other neighbouring Countries. It implies that medium and long terms objectives for the surveillance and prevention of CCHF and WND should include the establishment of international surveillance systems involving all countries at risk of the Mediterranean and neighbouring areas.

In addition, the collection of relevant epidemiological data, through effective surveillance systems based on validated and standardized diagnostic protocols, is fundamental for any science-based assessment of the risks of pathogens introduction and/or spread in defined geographical areas. The existence of harmonized surveillance systems, in fact, are fundamental for performing any risk assessment strictly based on factual data, and really useful for the decision-making process.

Since the development of an international surveillance network may represent, therefore, the first step for the standardization of the main epidemiological relevant information and for planning harmonised surveillance activities, a first prototype of a web-based GIS surveillance network was established, for the collection and the analysis of the existing information on WND and CCHF occurrence as well as other epidemiological relevant information deriving from surveillance activities.

The choice of the type of information to be included in the network was based also on the analysis of the answers to a specific questionnaire for the assessment of the existing WND and CCHF surveillance systems, and submitted to the national competent Authorities of Albania, Bulgaria, Croatia and Romania.

Despite of the risk of occurrence in the Balkan and Mediterranean areas, a clear picture of the geographical distribution (presence/ absence) of the infections is still not fully available, although there is evidence of viruses circulation and the presence of competent vectors in the region. The collection of data on WND and CCHF occurrence in the Balkan and East Mediterranean areas is based mainly on passive surveillance. Regarding the veterinary aspects, the passive surveillance in animals may be useful to detect WND cases in horses, in which the disease appears often with evident symptoms. However, this type of surveillance may reveal the circulation of the West Nile virus (WNV) only at later stages of the transmission cycle. On the contrary, for CCHF the use of the sole passive surveillance is not helpful, as the disease is completely asymptomatic in animals and the presence of the virus in the environment is detected by the sporadic occurrence in humans.

Consequently, it is of paramount importance to develop and implement an active surveillance system in animal populations and to strengthen human case reporting systems, considering that the vectors are present throughout the entire Mediterranean

area and both diseases are sporadically reported (WND) or suspected to be present (WND, CCHF).

The surveillance of WND and CCHF, therefore, should include also monitoring activities addressed to wild vertebrate hosts, with the aims of verifying the endemisation of the infections as well as to determine the possible source of introduction and spread of infections.

Surveillance activities on wild animals imply that specific skills and professionals must be involved, with particular reference to ornithologists and zoologists.

Collaboration between Medical and Veterinary services, furthermore, is of paramount importance for the proper surveillance and control of these diseases. Detailed protocols must be established for the exchange of information between services and for the interventions in case of suspicion of virus transmission. The development of common information systems, where data derived from the activities of Public Health and Veterinary services may practically enhance the collaboration between services and give a complete epidemiological picture of the situation.

Within the activities to be performed in collaboration between Medical and Veterinary services, the development of health education and communication campaigns towards at risk populations is of great importance. Clear and univocal messages should be addressed to the populations by the two services.

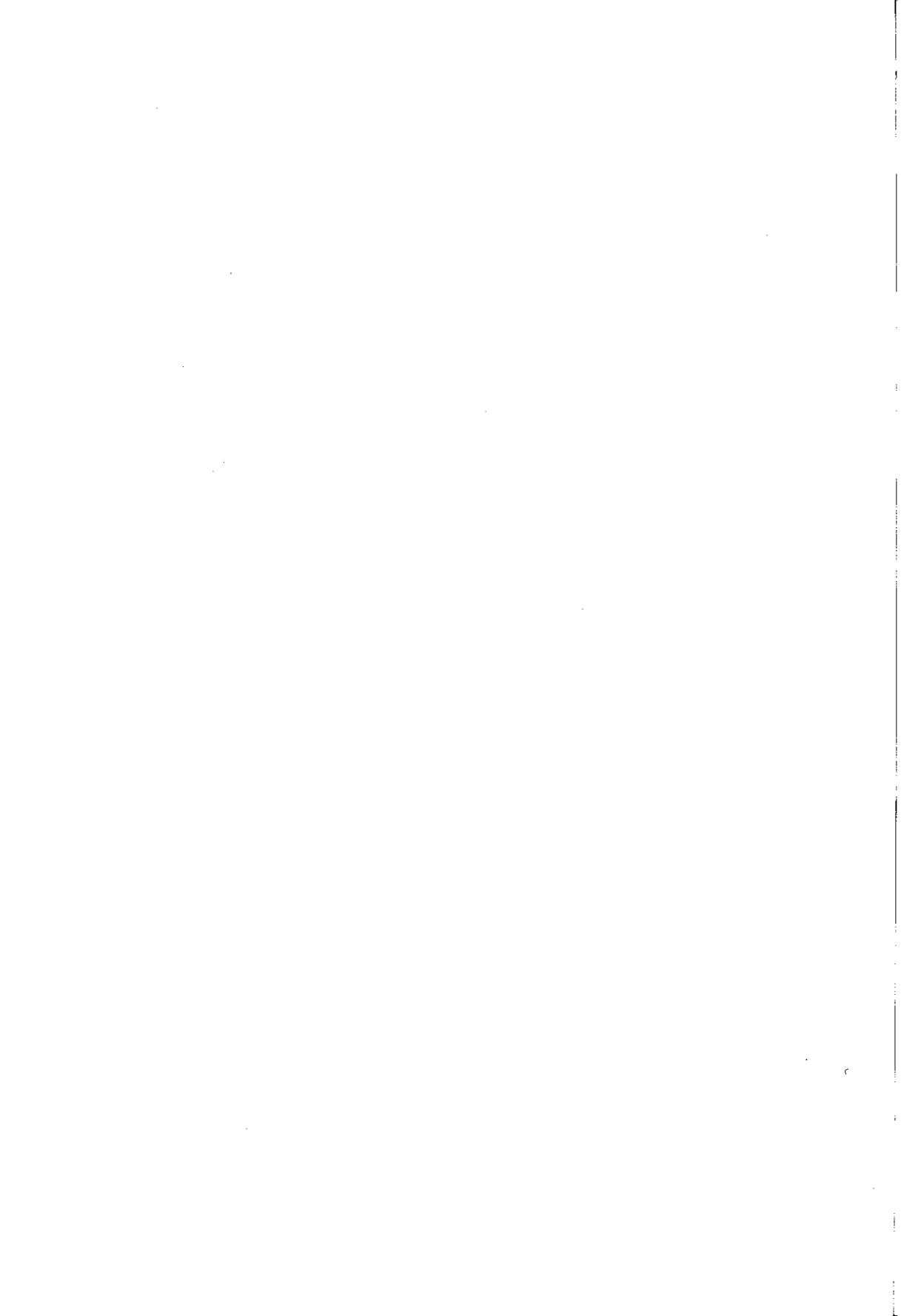
Finally more specific recommendations are given for the definition of standardised *case definitions and surveillance protocols*.

The activities of working group 2 were conducted in strict synergy with those performed within the framework of another concomitant project for the implementation of a regional surveillance network for vector-borne diseases of veterinary (bluetongue) and public health concern (West Nile disease, Crimean-Congo hemorrhagic fever) in the Balkan Region.

## Introduction

The Working Group 2 on emerging vector-borne zoonoses was appointed to analyse the existing surveillance systems in the Balkan and East Mediterranean countries and to make proposals for harmonized criteria for the surveillance of emerging vector-borne zoonoses. The Working Group decided to focus its activities on two major vector-borne zoonoses, already present in the geographical area of concern: West Nile Disease (WND) and Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF).

The activities were conducted in strict synergy with those performed within the framework of another concomitant project for the implementation of a regional surveillance network for vector-borne diseases of veterinary (bluetongue) and public health concern (West Nile disease, Crimean-Congo hemorrhagic fever) in the Balkan Region. This project was promoted by the Italian Abruzzo Region, and funded by the Italian Ministry of Foreign Affairs. The OIE Collaborating Centre for Veterinary Training, Epidemiology, Food Safety and Animal Welfare, Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abbruzzo e del Molise 'G. Caporale' (OIE-IZS A&M) was the scientific coordinator. The beneficiaries of the project were the Central Veterinary Services (including National Veterinary Laboratories and National Veterinary Epidemiological Centres) of the following countries: Albania, Croatia, Bulgaria and Romania.

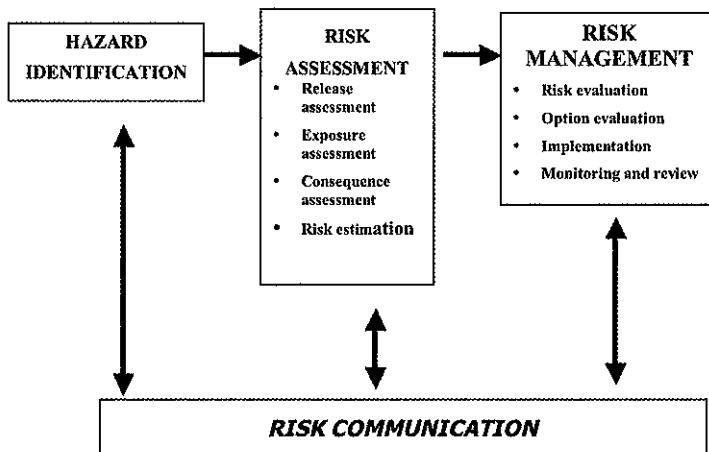


# The international surveillance networks as supporting tools for risk analysis

## The risk analysis process

According to the criteria set by the World Trade Organization in the Sanitary and Phytosanitary (SPS) Agreement for measures to be applied in the international trade of live animals, animal products and plants, the use of risk analysis is mandatory to justify the application of any sanitary or phytosanitary measure. Technical standards for the application of these procedures are defined and set by the World Organization for Animal Health (OIE), the Codex Alimentarius (FAO) and the International Plant Protection Convention (IPPC).

The OIE Terrestrial Animal Health Code (TAHC) describes the four components of import risk analysis (**Figure 1**) as:



**Fig. 1:** The structure of the OIE risk analysis process (OIE, 2004).

- *hazard identification;*
- *risk assessment;*
- *risk management;*
- *risk communication.*

The “hazard identification” is the process of identifying the pathogenic agents, or vectors capable of transmitting disease which could be introduced by the commodity considered for importation. This process requires a good knowledge of animal diseases, patterns of disease and the properties of the pathogenic agents (OIE, 2004).

The “risk assessment” phase consists of four steps (OIE, 2007):

- *release assessment*, which is the process of describing the biological pathway(s) necessary for an importation activity to “release” (that is, introduce) pathogenic agents into a particular environment, and estimating the probability, either qualitatively or quantitatively, of that complete process occurring;
- *exposure assessment*, which describes the biological pathway(s) necessary for exposure of animals and humans in the importing country to the hazards (in this case the pathogenic agents) released from a given risk source, and estimating the probability of the exposure(s) occurring, either qualitatively or quantitatively;
- *consequence assessment*, during which the relationship between specified exposures to a biological agent and the consequences of those exposures are quantified. A causal process must exist by which exposures produce adverse health or environmental consequences, which may in turn lead to socio-economic consequences. The consequence assessment describes the consequences of a given exposure and estimates the probability of them occurring;
- *risk estimation*, which is the process of integrating the results from the release assessment, exposure assessment, and consequence assessment to produce overall measures of risks associated with the hazards identified at the outset.

Release and exposure assessments require the skills of a veterinary epidemiologist. When assessing the risks posed by vector-borne diseases there may be a need for input from entomologists, parasitologists and climatologists. Consequence assessment will require the skills of a veterinary epidemiologist and in some cases the skills of an economist. The requirement for access to sources of data and information may also call for the skills of the information specialist. In addition, the knowledge of experts in the relevant industries will be required.

The process of “risk management” aims at identifying, selecting and implementing measures that can be applied to reduce the level of risk to an acceptable level. The assessment of risks must be a phase of the risk analysis process functionally separated from the risk management steps. However, a close relationship between the risk assessors and risk managers is essential to assure a rational relationship between the outcomes of the risk assessments and the sanitary measures that might be applied.

Risk communication, finally, is the interactive exchange of information on risk among risk assessors, risk managers and other interested parties (stakeholders). In risk communication, the stakeholders to be vary according the competencies and the sanitary problems of concern. When zoonoses are considered the stakeholders to be involved include all populations at risks, through mechanism of consultation that may vary between countries.

Beside the use of risk assessment techniques in the context of international trade of animals and animal products, quantitative risk analysis (QRA) is a powerful forecasting tool for the estimation of the effects of possible mitigation options, through the comparison of the risk outcomes under different and alternative scenarios (“what if scenarios”). It helps risk managers in taking decisions upon possible diseases control strategies to be applied and to plan a more efficient use of resources.

## **Role of surveillance in the risk analysis process**

The World Health Organisation (WHO) define “surveillance” as the systematic ongoing collection, collation and analysis of data and the timely dissemination of information to those who need to know so that action can be taken. In other words, the epidemiological surveillance is necessary to plan, single out, manage and evaluate the actions relevant for the management of the sanitary status of populations. In particular, the main tasks of surveillance systems may be summarised as follows:

- to monitor the sanitary status dynamics with the aim of intervening with timely preventive measures;
- to evaluate measures already implemented in relation to disease prevention and control;
- to optimize the use of available resources.

Since Veterinary Services in most of the affected countries are confronted with serious budget constraints, active epidemiological investigations provide reliable information about the sanitary status of animal and human populations as well as the existence and influence of possible risk factors, helping to concentrate resources in the areas of highest potential risk of introduction or spread.

In addition, the collection of relevant epidemiological data, through effective surveillance systems based on validated and standardized diagnostic protocols, is fundamental for any science-based assessment of the risks of pathogens introduction and/or spread in defined geographical areas. The existence of harmonized surveillance systems, in fact, are fundamental for performing any risk assessment strictly based on factual data, and really supporting the decision-making process. The availability of information on disease and infection occurrence and dynamics, deriving from harmonized surveillance systems, and based on comparable diagnostic procedures and on standard case definitions, is the pre-requisite for assessing the risk exposure of animal and human population to a certain pathogen.

## **Need for international surveillance networks**

Globalization of products, ingredients and processes, the spread of emergent communicable and vector-borne diseases, do not allow a single national approach in animal diseases and food safety control actions. Several global (e.g. severe acute respiratory syndrome – SARS –, avian flu) or regional (e.g. Foot and Mouth Disease – FMD – and bluetongue in the European Union, EU) crises have clearly indicated once more the necessity for a trans-boundaries and international approach to diseases surveillance and control.

The viral arthropod-borne zoonoses included in the present project represent an important group of infections for humans and animals, and an emerging sanitary threat in the Mediterranean Basin and in the neighbouring Countries. These diseases, being vector-borne infections, cannot be prevented through an animal trade control policy only. Moreover, the individual national measures tend to be completely inadequate and they are very often dependent on various choices made in other neighbouring Countries. It implies that medium and long terms objectives for the surveillance and prevention of CCHF and WND should include the establishment of international

surveillance networks embracing all countries at risk of the Mediterranean and neighbouring area.

The implementation of international surveillance networks, therefore, is the necessary condition for making available relevant epidemiological information, crucial for effective risk assessment studies on an appropriate scale, and for making science-based decisions in the evaluation of risk reduction options.

Networking has an added value *per se*, provided that all participants intend to transparently share information. The existence of international networks, able to collect relevant epidemiological data on animal diseases, and based on the willingness of exchanging information among the partners, facilitates the trade of animal and animal products and the harmonic application of principles included in the WTO SPS Agreement.

The European Commission too is seriously considering the importance of promoting international networks for supporting the strategies for animal diseases control. In the context of the European Neighbourhood Policy (ENP), the European Commission considers that: "for agricultural products, convergence with EU standards for sanitary and phyto-sanitary controls will greatly enhance reciprocal trade between the partner countries and the EU. Exchanging information and close co-operation in international organisations responsible for the control of animal and plant diseases and improved sanitary conditions to protect consumers are priorities" (European Commission, 2004).

Similarly, in the OIE fourth strategic plan 2006-2010 (OIE, 2005) specific recommendations are made for the achievement of the following objectives:

- improving animal health information, collection and dissemination for better control of diseases and safety of livestock products;
- strengthening animal disease surveillance systems, including those of aquatic animals and wildlife;
- improving knowledge of epidemiological surveillance systems on animal diseases and harmonisation of surveillance systems at the regional level.

In particular, twinning and networking between OIE reference laboratories, OIE collaborating centres and national laboratories are some of the possible means to accomplish the above-mentioned strategic objectives.

## A brief history of west Nile virus infection

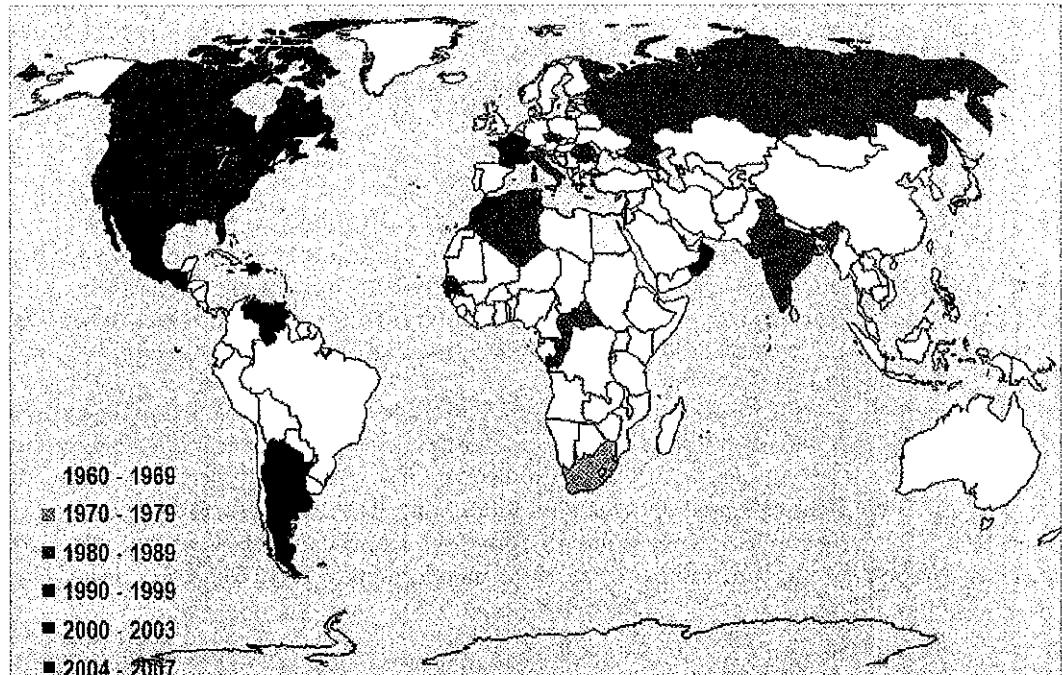
West Nile virus (WNV) is one of the most widespread mosquito-borne flaviviruses (Flaviviridae), recently having spread to South America, its sixth continent. It was first isolated from a febrile woman in the West Nile District of Uganda in 1937 and has emerged in recent years in temperate regions of Europe and North America, presenting a threat to public health, equine health, and since the end of the 1990s, the health of bird populations (Owen *et al.*, 2006).

### History

Since its first isolation in 1937, WNV showed two different evolutions: in time and space and in its pathogenicity.

#### Spatio-temporal evolution

The spatio-temporal evolution of the reported outbreaks of West Nile Disease (WND) is shown in **Figure 2**. It clearly appears that actually only very limited areas in the World can be considered free from the disease.



**Fig. 2:** Spatio-temporal distribution of reported cases of West Nile Disease.

### Evolution in pathogenicity

In Israel, by the end of the 1950s, the virus already showed its ability to cause serious neurological symptoms in humans. In the early 1960s cases of equine encephalitis were first noted in Egypt and France, while in the 1970s a vast epidemic occurred, with more than 10,000 human cases in South Africa. In 1996 the virus emerged as the major cause of arboviral encephalitis in urban areas in Romania, where it led to 393 recognized human cases of encephalitis, with 16 deaths. From 1996 onward, WND outbreaks have been recorded in humans and horses with increasing frequency in the Mediterranean Basin, Russia, and Australia. In 1997 a new strain of the virus that caused disease in young domestic geese was isolated in Israel and the same strain has been found to be responsible of the pandemic that occurred since 1999 in the U.S.A. and North America. This new strain is highly pathogenic for humans, horses and even birds, especially corvids, which are considered the reservoirs of the agent (Komar *et al.*, 2003).

## **Clinical description**

### Equine

WNV infection in equines ranges from asymptomatic to fatal encephalitis. A higher proportion of infected horses develops encephalitis compared with humans. In naturally infected horses, WNV infection typically causes attitudinal changes (somnolence, listlessness, apprehension, depression, or hyper-excitability) and neurological signs including muscle fasciculations and limb paresis or paralysis (Komar *et al.*, 2003; Cantile *et al.*, 2000).

### Avian species

WNV – infected birds suffer a spectrum of clinical outcomes ranging from no symptoms to death. General signs of infection include lethargy, decumbency, abnormal posture. Corvids are highly susceptible to fatal outcome. Because of the high rates of natural infection in birds during epizootics, disease in serum-positive birds may be difficult to attribute to WNV infection (Komar *et al.*, 2003).

### Other vertebrates

Fatal cases of WND have been reported in approximately 20 species of mammals, and more than 30 have been found serologically positive. Reptiles, such as alligators, died from the disease and amphibians become serologically positive after infection (Komar *et al.*, 2003).

### Human

WNV infection in humans causes a spectrum of manifestations from sub-clinical

infection to death. The disease is usually classified in different forms, namely WN fever (cases lacking neurological manifestations not requiring hospitalisation), WN meningitis (meningeal inflammation, including nape rigidity), WN encephalitis (encephalopathy, i.e. depressed or altered level of consciousness, lethargy or personality changes) and WN acute flaccid paralysis (acute onset of limb weakness with marked progression over 48 hours) (Sejvar *et al.*, 2003).

## Epidemiology

WNV is transmitted primarily by the bite of infected mosquitoes that acquire the virus by feeding on infected birds. The intensity of transmission to human and animals is dependent on abundance and feeding patterns of infected mosquitoes and on local ecology and behaviour that influence human and animal exposure to mosquitoes. The incidence of WNV infection shows a clear seasonal pattern in temperate zones of Europe, of the Mediterranean Basin and of North America, with a peak from July to October. In humans transplanted organs, transfused blood, occupational exposure, breast milk and probably transplacental transmission may represent an alternative route of WNV transmission. In birds infection may occur through feeding on bird carcasses. WNV is primarily transmitted by *Culex* mosquitoes, but other genera may also be competent vectors. In Europe and Africa, the principal vectors are *Cx. pipiens*, *Cx. univittatus* and *Cx. antennatus*. In North America, WNV has been isolated from 59 different species of mosquitoes with different ecology and behaviour. The intensity of WNV transmission is determined primarily by the abundance of competent mosquitoes and the prevalence of infection in mosquitoes. Although both soft and hard ticks can become infected with WNV, they are unlikely to play a significant role in WNV transmission. Birds are considered to be the most important reservoir of infection, some of them being able to develop a sufficiently high and long viremia to sustain the transmission cycle. Among these, species in the orders Passeriformes, Charadriiformes, Strigiformes and Falconiformes developed viremia levels sufficient to infect most feeding mosquitoes. On the other hand, species of Columbiformes, Piciformes, and Anseriformes did not develop sufficient levels of viremia for infecting mosquitoes. Certain passerines, including house sparrows (*Passer domesticus*) have been found to be highly infectious to mosquitoes and they could serve as important amplifying hosts. The importance of birds in dispersing WNV is still under discussion. Local movements of resident, non migratory birds and long range travel of migratory birds may both contribute to the spread of WNV. Human and horses are commonly described as dead-end hosts (spill-over) as they are unable to reach sufficient levels of viremia to allow the transmission to uninfected vectors. Even when one of these hosts is immuno-compromised, and a small probability of transmission of the virus may exist, the possibility that they can play a role in WNV transmission is very unlike (reviewed in Komar *et al.*, 2003).

## Surveillance

Beside the evaluation of clinical symptoms, both in humans and animals, the laboratory plays an important role in WNV surveillance programs. As WNV is maintained in nature by birds, its monitoring through the use of sentinel birds appears

to be the best method. WNV infections in avian hosts should occur more frequently (and therefore, earlier) than the disease events in people and horses. Species of birds other than chickens have been used as captive sentinels for arbovirus monitoring, including pheasants, bobwhite, Japanese quail, pigeons, and wild birds. Captive mammals, such as horses, have been used as well. Anyway, when a sentinel system must be planned, the choice of the animals to be used (mammals and/or birds) should reflect the point in the transmission chain, which is the target of our surveillance.

Although the monitoring of crow deaths has been used as a useful surveillance system in areas where bird mortality is recorded, it is cannot be applied in all the epidemiological situations, especially where no clear link between WND and birds mortality has been proved.

Monitoring of mosquito pools for presence of WNV is another option. However, it must be taken into account that the probability to isolate the virus from mosquitoes specimens collected in the field is very low, unless an epidemic is currently occurring. In North America an efficient monitoring system in humans has been carried out through the monitoring of blood donations made directly by the Red Cross.

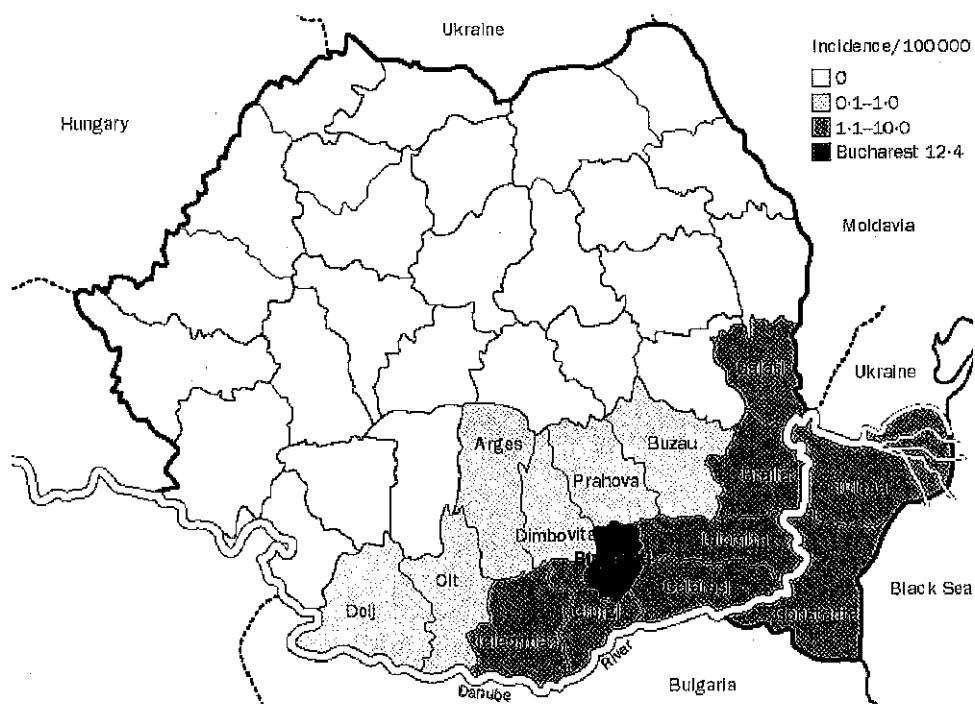
A correct surveillance program should include more than one of the aforementioned methods, not forgetting, however, the limitations in the correct evaluation of surveillance results posed by the methods used in the laboratory for the serological diagnosis of the infection. As WNV belongs to the Japanese encephalitis serocomplex, it shows serological cross-reactivity with different phylogenetically related Flaviviruses, such as Usutu, and Marburg viruses in Europe and in the Mediterranean area, and Saint Louis encephalitis virus in North America (reviewed in Komar, 2001).

## West Nile virus disease in Romania

The epidemic in Romania in 1996 was the first relevant outbreak of West Nile fever recorded in Europe. Seven hundred and ninety seven (797) out of 835 patients (92%) admitted to hospital with suspected neurological symptoms met the definition of West Nile fever (WNF) cases. Appropriate samples were collected from 441 of these patients and from other 68 who did not meet the case definition. A total of 393 patients had laboratory-diagnosed WNF. The symptoms progressed to coma in 13% of cases leading to 17 deaths (case fatality ratio equal to 4.3%). Based on the onset of illness in human the epidemic started July 15 and ended October 12, peaking in the first week of September. The first confirmed cases were reported from Bucharest, and in other districts three weeks later. The epidemic was confined to the Danube plain, southeast of the Carpathian range with the highest rate of infection in districts bordering the Danube River (Figure 3). From anecdotally reported cases in Bulgaria, the disease spread far south to include an even larger area of the Danube delta. *Culex pipiens* was the predominant mosquito species in Bucharest representing 94% of all mosquito pools collected (Tsai *et al.*, 1998).

WNV infection was found to be associated with presence of mosquitoes indoors and flooded apartment building basements (Han *et al.*, 1999). Serum-prevalence was also determined in bird species. Thirty out of 73 domestic fowl and 1 out 12 wild birds were found serologically positive. No increase in equine encephalitis cases was reported (Tsai *et al.*, 1998).

If we exclude the surveys reported by Tsai et al. and by other Authors (Savage *et al.*, 1999) showing antibodies against WNV in chickens, ducks, geese, peahens and turkeys, there are no reports of structured surveillance in animals in Romania.

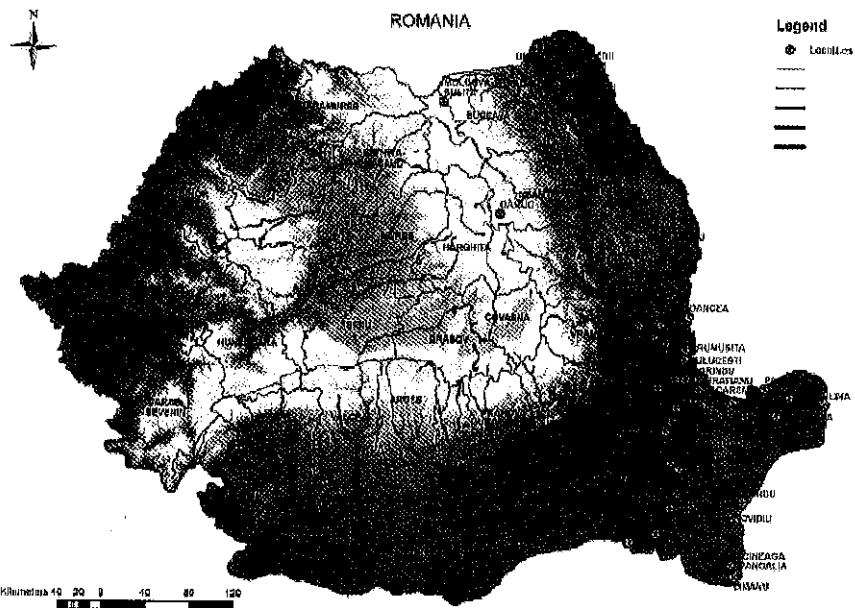


**Fig. 3:** West Nile encephalitis incidence by districts, 1996 (Tsai *et al.* 1998).

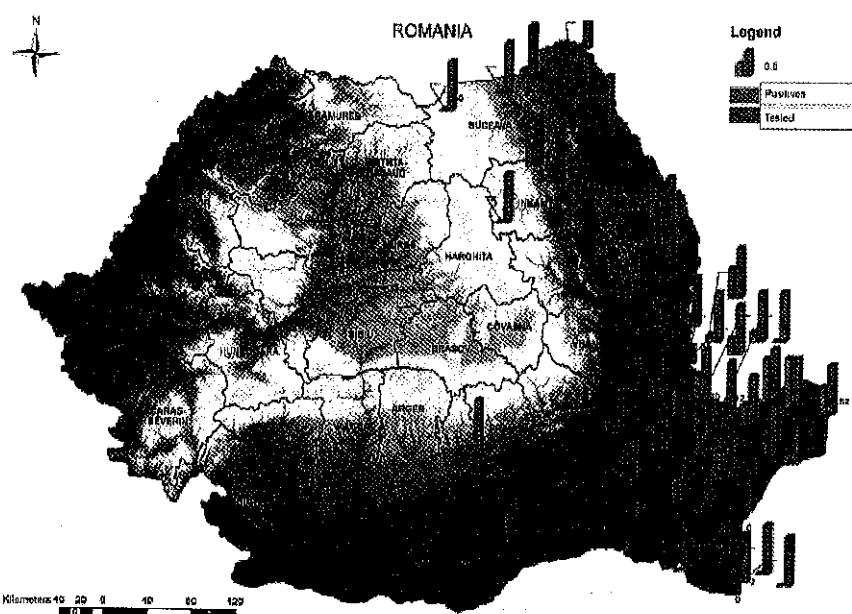
In 2006 and 2007 a serologic survey was applied in order to evaluate the possible circulation of the virus among horses. Five hundred and seventy eight sera have been analysed using a commercial indirect ELISA and a serum-prevalence of 39.8% was recorded. The results of the survey are shown in Figures 4 and 5 (kindly provided by Dr. Ionescu as part of her oral presentation at the project meeting in Tulcea, Romania).

### West Nile disease in Italy

An epidemic of WNV encephalitis occurred in Italy during the late summer 1998, among horses residing in a wetland area in the Valdinievole Valley, Tuscany. The disease affected 14 horses, 6 of which succumbed. Although the number of confirmed cases reported was small, the case-fatality rate of this Italian outbreak (43%) was similar to the rate observed in France in 2000 and to the one observed at the beginning of the epidemic in the USA. In fact, the serologic survey demon-



**Fig. 4:** Serological survey on horses (2006-2007). Sites of sample collection.



**Fig. 5:** Serological survey on horses (2006-2007). Percentage of positive and negative samples.

strated that WNV spread over a wider area occurring also in premises without clinical symptoms (Autorino *et al.* 2002). Since 2001, the Italian government implemented a surveillance system to monitor WNV introduction and circulation. The results showed a very low prevalence of antibodies against WNV virus in horses in some of the areas under control; in the same areas a very low level of antibodies against flaviviruses in sentinel chickens was also detected. The low level of antibody response, the lack of virus isolation and the complete absence of clinical symptoms in both horses and birds do not allow to determine if the virus circulates in those areas at low level of endemicity or if the antibody response is the result of some cross-reacting West Nile-like flavivirus.

## West Nile virus disease in the United States

West Nile virus was reported in New York city in 1999 and rapidly swept toward all directions: across the North American continent toward the West Coast, northward to the southern Canada and southward to the Latin America continent (Figure 6). To date it has been estimated that the WNV has infected about 1 million Americans, killing almost 800 (Reisen *et al.* 2007).

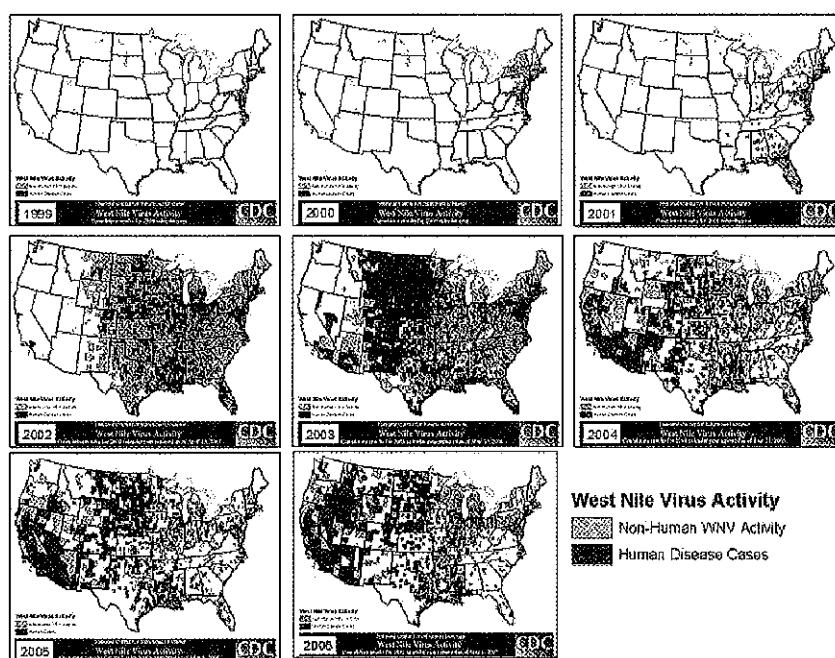


Fig. 6: WNV spread in USA from 1999 to 2006 (CDC source).

In fact, since 1999, about 20,000 cases of WND have been reported in the USA, of which more than 8600 caused neuroinvasive disease with almost 800 fatalities. The

2002-2003 epidemics were the largest outbreaks of meningitis or encephalitis ever reported in the western hemisphere. From a screening from blood donors it was estimated that 735,000 individuals were infected with WNV (Kramer *et al.* 2007).

The large amount of studies performed in the USA is useful to better explain some of the aspects of WNV epidemiology of paramount importance for WNV surveillance and control.

Sequence analyses of the earliest isolates of WNV from North America indicated a sequence identity of 99.8% with the strains circulating concurrently in Israel. The virus has subsequently undergone little variation and this could be one possible explanation of its adaptation to avian and mosquito hosts as it crossed the North American continent. Regional epidemics in equines and humans typically have included a year of viral introduction with minimal activity, successful overwintering, explosive amplification to epidemic levels the following year and then rapid subsidence (Reisen *et al.* 2007).

To explain this epidemic pattern different mechanisms have been implicated:

- infected overwintering female mosquitoes. They result from vertical infection or from small prediapause blood meals during fall but regardless of the mode of infection they terminate diapause during spring and are capable of renewing transmission;
- continued transmission. In warmer latitudes WNV infected birds and mosquitoes are found throughout the year making renewed transmission feasible;
- chronic infections in birds. Although corvids usually succumb to the NY99 strain of the virus, different species of birds recover and could maintain the virus in their organs;
- migratory birds: Several warblers are highly susceptible to WNV infection raising the possibility that virus could overwinter at southern latitudes and then be transported northern at each spring.

To date it seems that for an epidemic to occur, a high number of infected hosts is needed (i.e. high amplification rates among birds) as the primary vector *Culex pipiens* seems not to be very susceptible to the infection (Reisen *et al.* 2007).

## A brief history of Crimean-Congo haemorrhagic fever

Crimean-Congo haemorrhagic fever (CCHF) is a tick-borne zoonosis of major public health concern in many regions of the World, including Africa, the Middle East, Southern and Eastern Europe, and Western Asia. CCHF is caused by a virus belonging to the genus Nairovirus (family Bunyaviridae) and it is transmitted by Ixodid ticks, particularly by ticks belonging to *Hyalomma* genus.

In the 12th century, a haemorrhagic syndrome was described in the present day Tajikistan. The signs were presence of blood in the urine, rectum, gums, vomit, sputum, and abdominal cavity. The arthropod causing the disease was said to be tough, small, related to a louse or tick, and normally parasiting a black bird. In the modern era, Crimean haemorrhagic fever was first described as a clinical entity in 1944-45, when about 200 Soviet military personnel were infected while assisting peasants in Crimea in the wake of Second World War. The virus was isolated from blood and tissues of patients using intracerebral inoculation of newborn white mice in 1967. The virus responsible for the cases in Crimea was later shown to be antigenically indistinguishable from Congo virus, isolated in 1956 from a febrile patient in Belgian Congo (present day Democratic Republic of the Congo) led to the virus being called Crimean haemorrhagic fever-Congo virus, and then Crimean-Congo haemorrhagic fever virus (Ergonul, 2006). Clinical disease in humans is initially manifested as an acute febrile illness followed by a fatal hemorrhagic syndrome with mortality rates of up to 50% (Swanepoel, *et al.*, 1987).

Humans may also become infected through direct contact with blood or tissues of infected humans or livestock (Swanepoel, 1995). The highly pathogenic nature of the virus occasionally results in serious nosocomial outbreaks (Pappaioanou, 2004).

The number of potential hosts for CCHFV is high and reflects the diverse feeding preferences of the immature and adult tick vectors. Antibodies against CCHF virus have been detected in domestic and wild animals including hares, hedgehogs, rodents, chiropters, and large mammals such as giraffes and rhinoceroses. The most important source of virus transmission are immature ticks of *Hyalomma* genus, which feeds small vertebrates' blood. Once infected, the tick remains infected throughout its life (transstadial transmission), and the mature tick may transmit the infection to large vertebrates, such as livestock. Domestic ruminants, such as cattle, sheep, and goats usually have viraemia for one week after becoming infected, during the viremic period blood and fresh tissues are infective by contact.

The exact role of bird is still not well defined; on each continent dozens of bird species serve as hosts to the nine or ten species of ticks, which feed on birds during their immature stages of development (Chevalier, *et al.*, 2004). Despite of the observation that the level of viremia in birds is usually low to unnoticeable, it has been shown for African wild ground-feeding birds that the virus can be replicated and transmitted by infected birds (Zeller, *et al.*, 1994) to *Hyalomma marginatum rufipes* ticks suggesting that the role of birds in the epidemiology of the virus could be two-fold (i.e. transportation of infected ticks and local/long distance dissemination of the virus by infected birds). Recently, birds migrating from Russia with their ticks across the Black Sea were suggested to be the cause of the 2002 outbreak in Turkey (Karti, *et al.*, 2004).

The virus may be maintained in tick populations during inter-epizootic periods through several mechanisms, such as trans-stadial and trans-ovarial transmission, and the co-feeding of ticks aggregated on the same host. Epidemics usually take place

during the peak activity periods of *Hyalomma* ticks (hot and dry season) (Swanepoel, 2006). Epidemiologically, CCHF cases are distributed mainly among actively working age groups exposed to tick populations. The major at-risk group are farmers living in endemic areas; most of the affected cases deal with agriculture and/or animal husbandry. Almost 90% of the cases in the recent outbreak in Turkey were farmers (Ergonul, *et al.*, 2006).

Although there is no evidence that the virus causes disease in animals, CCHF virus-infected individuals were reported after skin contact with livestock and other animals (Hoogstraal, 1979). Veterinarians and abattoir workers working on large domestic animals are also an at-risk group; acquisition of the virus usually takes place while slaughtering animals. Viremic blood from sub-clinically infected animals was the most likely source of infection, but exposure to ticks during these processes is also likely, at least in some of the cases (Ergonul, 2006). Meat itself is not a risk because the virus is inactivated by post-slaughter acidification of the tissues and would not survive cooking in any case.

Hiking, camping, and other rural activities are also a risk factor for tick exposure. Gender distribution varies between countries, depending on the participation of women in agricultural work. Outbreaks have recently been reported in South Africa when heavily tick-infested ostriches were slaughtered (Fisher-Hoch, *et al.*, 1992). Infection was reported to be acquired either by contact with ostrich blood or inadvertently crushing infected ticks while skinning ostriches.

Molecular epidemiology of African and Asian CCHFV isolates has been investigated by Burt and Swanepoel in 2005 (Burt and Swanepoel, 2005). Phylogenetic relationships were examined for 70 CCHFV isolates from southern, central, and western parts of Africa, the Middle East, and Greece using sequence data determined for a region of the S segment of the genome. Analysis revealed up to 18% genetic differences. Tree topology supports previous evidence for the existence of three groups of genetically related isolates; A, B, and C. Within group A, there are two clades: an African clade and a predominantly Asian clade comprising isolates from Pakistan, China, Iran, Russia, and Madagascar. Group B includes isolates from South and West Africa, and Iran, and group C includes a single isolate from Greece. Despite the potential of dispersal of the virus between Africa and Eurasia, it appears that circulation of the virus is largely compartmentalized within the two land-masses, and the inference is that the geographic distribution of phylogenetic groups is related to the distribution and dispersal of tick vectors of the virus (Paweska, 2007).

In Italy CCHF is never been reported, but the presence and the geographical spread (below the 47°N) of *Hyalomma* ticks through the Italian land poses at high risk the country.

## CCHF in the Balkans and in the Middle East

From 1997 to 2004, a total of 124 cases occurred in Bulgaria, 27 of them fatal. During the spring and summer of 2001 (Papa, *et al.*, 2004) an outbreak of eight cases of Crimean-Congo hemorrhagic fever occurred in Albania (Papa, *et al.*, 2002) while 133 confirmed cases of CCHF (33 fatal) have been reported from Kosovo from 1995 to 2006 (Dedushaj, *et al.*, 2006).

A severe epidemic has been taking place in Turkey since 2002 with 1,103 clinical cases with 59 fatal cases recorded until 2006 (Uzun, 2006). More recently (2007), 133 clinical cases have been reported with 7 fatalities (ISID, 2007).



**Fig. 7:** Crimean-Congo hemorrhagic fever human cases in Turkey (Uzun, 2006).

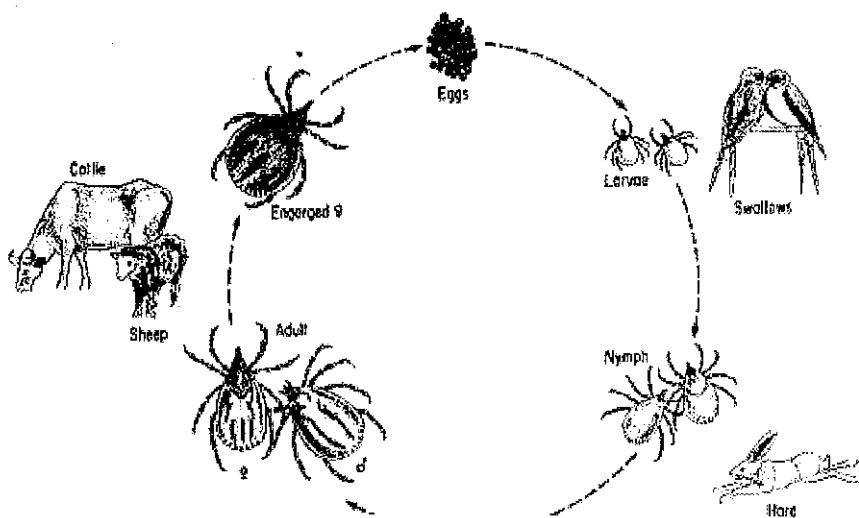
More recently, in March and April 2008, six probable CCHF human cases were reported (Kunchev and Kojouharova, 2008) in the municipality of Gotse Delchev, in Blagoevgrad district, Bulgaria, an area bordering Greece and FYROM. The cases presented with different clinical manifestations. The first case was a man in his forties who became ill on 20 January 2008 with fever, myalgia and joint pain, one-day diarrhea and weakness. On 25 March, epistaxis with heavy bleeding developed. A tamponade was applied at the otorhinolaryngology department of the local hospital. He was admitted in the infectious disease ward with a suspicion of haemorrhagic fever. His condition rapidly deteriorated (strongly expressed leuco – and thrombocytopenia) and he died on 26 March. The second case was a man in his thirties from the same town. The illness began on 22 January with fever and weakness. On 26 March, he had bloody sputa and was taken into the infectious disease ward. On 27 March he was transferred to the infectious disease hospital in Sofia. He was discharged soon afterwards in good condition. These two patients had, on 17 and 18 March, both removed, with unprotected hands, ticks from cows in the neighbouring village and had taken part in the slaughter of a sick calf. The veterinary authorities reported the calf to have been sick from tannin poisoning. The third case was a healthcare worker in her fifties who had taken care of the first patient when he was bleeding. She was hospitalised on 2 April and discharged in good condition a week later. The fourth case was a woman in her forties from the same town, a close family contact of the first patient. On 10 April, she was hospitalised with fever, weakness, stomach pain, nausea and vomiting. She had contact with the first case's blood when he had a nose-bleed before being taken to the hospital. She was discharged from hospital in good condition on 18 April. Two further cases were from other villages in the municipality and did not have any relationship to the cases described above. A man in his forties became ill on 31 March and a man in his sixties became ill on 9 April. They both had similar clinical pictures: fever, muscle and joint pain, weakness, and bleeding from the nose. It was ascertained that they had both removed ticks from cattle by hand.

Crimean-Congo hemorrhagic fever has been also reported in the near Middle East. In November 1994 an outbreak of CCHF involving abattoir workers has been reported in the United Arab Emirates (Khan, *et al.*, 1997). In 1990 CCHF has been imported by trade of sheep from Africa into western Saudi Arabia (El-Azazy, *et al.*, 1997). The disease has also been reported in Oman, Iran and Iraq (Williams, *et al.*, 2000; Mardani, *et al.*, 2003; Tantawi, *et al.*, 1980).

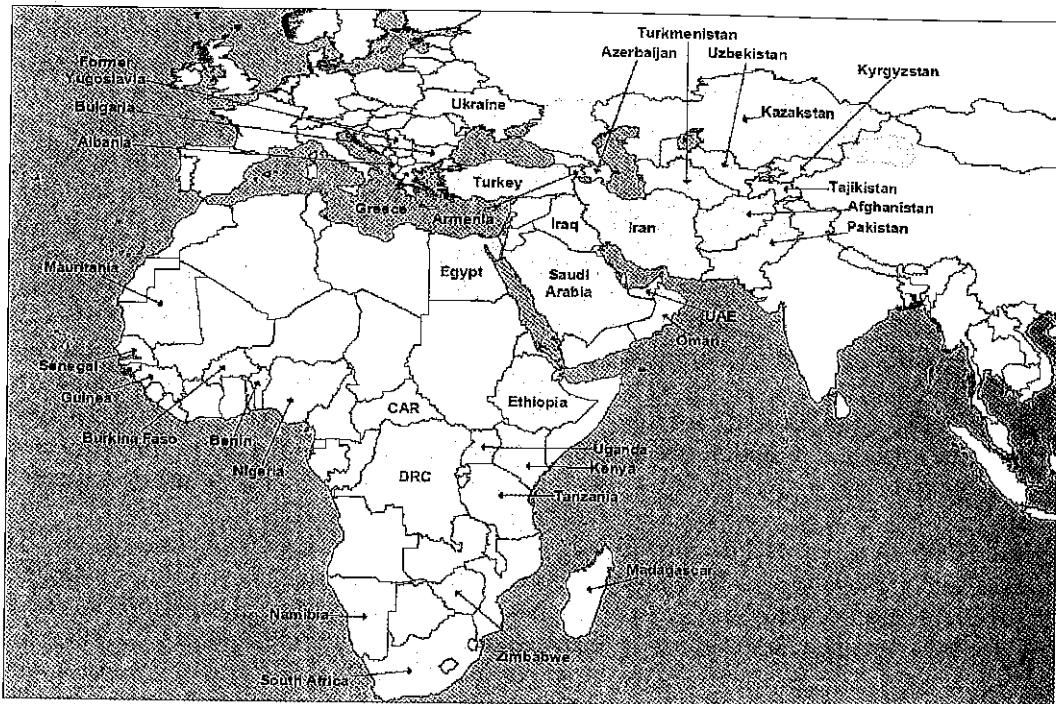
## CCHF in the Republics of the former Soviet Union

Crimean-Congo hemorrhagic fever is also reported in Ukraine, in the southern region of the Russian federation and in the Caucasian and Asiatic republics of former Soviet Union.

In particular after the prolonged (about 30 years) absence of Crimean-Congo hemorrhagic fever morbidity in the Stavropol territory, cases of this infection were registered, and received laboratory confirmation, in summer of 1999-2000. At the end of the 1999 season antibodies to CCHF virus were detected among cattle-breeders in all 7 inspected regions of the territory. According to the data of the determination of virus contamination of Ixodid ticks (the season of 2000), the circulation of CCHF on the territory of 14 regions out of 24 expected was established. It has been shown that the essential factor of the exacerbation of the epidemic situation was a rise in the number of *Hyalomma marginatum* ticks, the main vector of the causative agent of CCHF in the south of Russia (Smirnova, 2005).



**Fig. 8:** Cycle of CCHF virus (source <http://web.uct.ac.za/depts/mmi/stannard/congo.html>)



**Fig. 9:** Global distribution of CCHF virus (Swanepoel, 2006).



## Assessment of the existing surveillance systems

In the context of a concomitant cooperation project for the implementation of a regional surveillance network for vector-borne diseases in some Balkan countries (Albania, Bulgaria, Croatia, Romania), a questionnaire for the assessment of the existing WND and CCHF surveillance systems and the evaluation of training and diagnostic needs was submitted to the national competent Authorities of the four countries. The questionnaire was divided into three sections:

**Section A** to collect information on surveillance activities in place and diagnosis in humans;

**Section B** to collect information on surveillance activities and diagnosis in animals;

**Section C** to collect information on entomological surveillance activities and virus detection in vectors.

The analysis of the questionnaires indicated that, despite the presence of WND in the Balkan area, the main source of information is given by passive surveillance. None of the four countries is carrying out at moment an active entomological and serological surveillance system in humans and animals, even where human confirmed cases were reported.

Data retrieved from the WND questionnaires highlight that skills and information are not harmonised among countries whereas most of CCHF questionnaires did not provide data on general information, diagnostic expertise and capabilities. Moreover, for both diseases the "case definition" is provided only by Romania for surveillance of disease in humans.

Finally, being vector-borne zoonoses, the improvement of the relationship among the different scientific figures (veterinarians, physicians, entomologists, zoologists, statisticians, epidemiologists, etc.) involved in the management of the ecosystem health, should not be underestimated. In many countries of the area at risk, formalised collaboration procedures and protocols for data exchange are not present between the Public Health and Animal Health sectors. Therefore, the design and the establishment of any surveillance system for these vector-borne diseases must take into account the necessity to develop these common procedures and data exchange protocols.

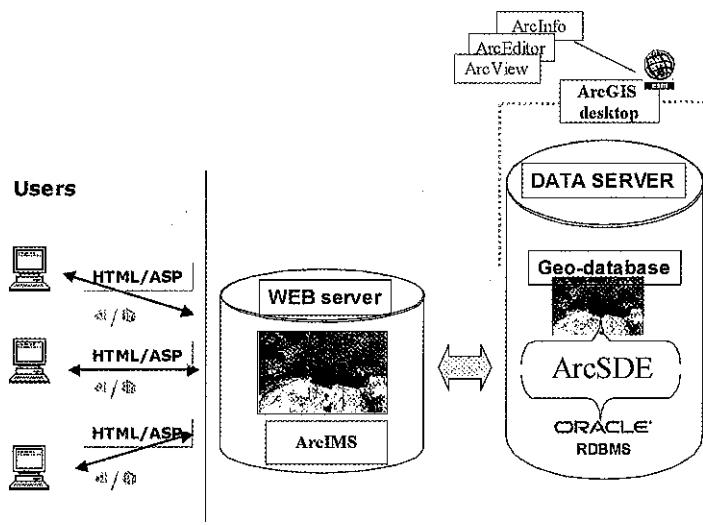
A more detailed and complete analysis of the answers to the questionnaires is presented elsewhere.



# Description of the web-based GIS application

## System's architecture

The GIS database is accessible by all authorised users through a generic internet browser. Two servers host all GIS applications and functions (**Figure 10**), as follows:



**Fig. 10:** Architecture of the web-based GIS application.

- a GIS server, which collects ArcIMS™ 3.1 (ESRI® – Environmental Systems Research Institute Inc.) projects developed using an html viewer customisation for publishing maps, data, images and Java™ script pages (JSP).
- a data server containing ArcSDE™ (ESRI®) and an Oracle™ relational database management system (RDBMS), where spatial and alphanumerical data are stored. ArcSDE™, the gateway between ArcIMS™ and RDBMS, is used to share and manage the spatial data, and to optimise simultaneous access to the geographic features by several users.

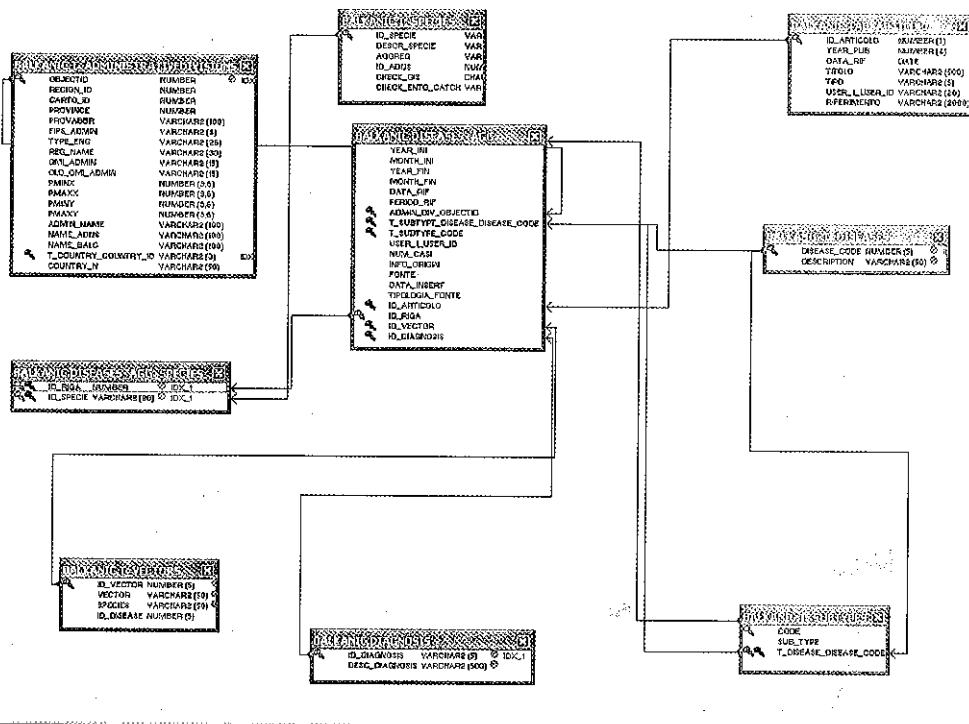
The ESRI® ArcGIS Desktop software package is used to develop and manage the geo-database. This is an integrated package of GIS applications including ArcView, ArcEditor and ArcInfo.

## Database structure and types of information collected

**Figure 11** describes the structure of the database realized for the collection and storing of information on WND and CCHF occurrence. Multiple data sources have been

used to depict a clear and updated picture of the occurrence of these two infections in Europe and in the Mediterranean Basin:

- data on outbreaks of WND in horses are extracted from the OIE international diseases reporting systems: WAHIS (World Animal Health Information System);
- reports on human cases in published papers and in other not-official reporting system, like ProMed, have been considered for complementing the information on the occurrence of WNV infection in animals and to describe the geographical distribution of CCHF infection. In fact, CCHF in animals does not induce any clinical sign and, therefore, information on the occurrence of this infection in animals may be originated only as a consequence of specific surveillance activities, often carried out in consequence of the occurrence of human cases. Data deriving from not-official notification systems or published papers are clearly distinguished from the others.



**Fig. 11:** Structure of the database where the information on WND and CCHF occurrence are stored.

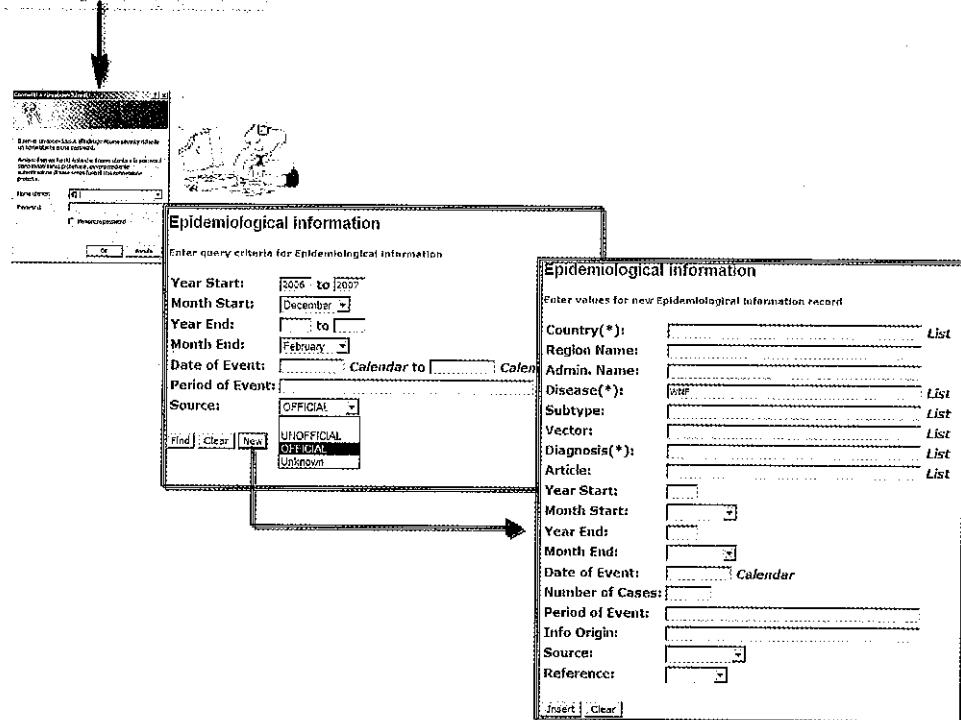
Information on the country and month of occurrence are registered in all cases, whereas the following information are collected when available (Figure 12):

- virus strain responsible;
- type of diagnosis (clinical, serological, virological, combined clinical/laboratory);
- number of cases;
- possible origin (vectors biting, contact with sick animals, blood transfusion, etc.).

## EPIDEMIOLOGICAL DATA

Maps  
Tables  
Articles

### Epidemiological Information



The figure shows a screenshot of a web-based application for managing epidemiological data. At the top, there's a navigation bar with links for 'Maps', 'Tables', 'Articles', and 'Epidemiological Information'. A large arrow points down from the 'Epidemiological Information' link to a detailed view of the system.

The main interface consists of two side-by-side forms:

- Epidemiological information** (left):
  - Section title: Enter query criteria for Epidemiological information
  - Fields: Year Start (2006 to 2007), Month Start (December), Month End (February), Date of Event (Calendar to Coleen), Period of Event, Source (OFFICIAL dropdown with options OFFICIAL, UNOFFICIAL, UNKNOWN).
  - Buttons: Find, Clear, New.
- Epidemiological Information** (right):
  - Section title: Enter values for new Epidemiological Information record
  - Fields: Country (\*), Region Name, Admin. Name, Disease (\*), Subtype, Vector, Diagnosis (\*), Article, Year Start, Month Start, Month End, Date of Event (Calendar), Number of Cases, Period of Event, Info Origin, Source, Reference.
  - Buttons: Insert, Clear.

**Fig. 12:** Types of information registered for describing the occurrence if WND and CCHF.

When the source of the information is a published paper, the complete reference, including the abstract, is provided (**Figure 13**).

The database, furthermore, permits to add further information on the main vector species involved in the viruses transmission in the different geographical areas.

The efforts done in the standardization of the main relevant epidemiological data is not over, and further activities are ongoing for including also harmonised information on the results of national surveillance plans.

## The web GIS application

A web-GIS application has been developed to map the spatial distribution of WND and CCHF in Europe and in the Mediterranean Basin (**Figure 14**). Users may filter data to be represented according to multiple criteria (time period, species involved, strains), and he/she may access to the data records directly through the maps (**Figure 15**). Typical geographical tools (zoom in, zoom out, pan, object selection, distance calculation, buffer creation) are available for data analysis and map personalization (**Figure 16**).

## EPIDEMIOLOGICAL DATA

Maps  
Tables  
Articles

### Epidemiological Information

The screenshot displays two overlapping windows titled "Epidemiological information".

**Left Window (Top):**

- Header: Enter query criteria for Epidemiological Information.
- Fields:
  - Year Start: 2006 to 2007
  - Month Start: December
  - Year End: ... to ...
  - Month End: February
  - Date of Event: Calendar to [Color]
  - Period of Event: [dropdown] OFFICIAL
  - Source: [dropdown] OFFICIAL
- Buttons: Find, Clear, New

**Right Window (Bottom):**

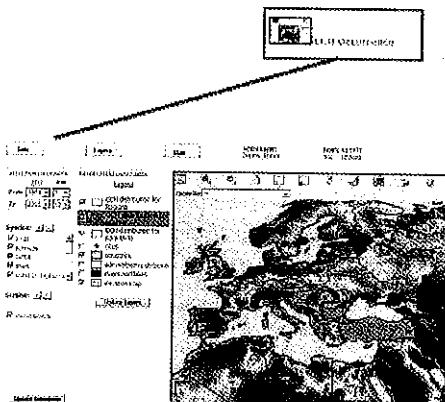
- Header: Enter values for new Epidemiological Information record.
- Fields:
  - Country(\*): [dropdown]
  - Region Name: [dropdown]
  - Disease(\*): [dropdown] WNF
  - Subtype: [dropdown]
  - Vector: [dropdown]
  - Diagnosis(\*): [dropdown] Unknown
  - Article: [dropdown]
  - Year Start: [dropdown]
  - Month Start: [dropdown]
  - Year End: [dropdown]
  - Month End: [dropdown]
  - Date of Event: [dropdown] Calendar
  - Number of Cases: [dropdown]
  - Period of Event: [dropdown]
  - Info Origin: [dropdown]
  - Source: [dropdown]
  - Reference: [dropdown]
- Buttons: Insert, Clear

Fig. 13: Data of published papers.

## EPIDEMIOLOGICAL DATA

Maps |  
Tables

### Crimean Congo Hemorragic Fever (CCH)



### West Nile Disease (WND)

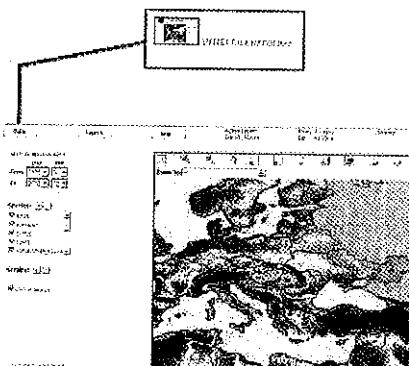
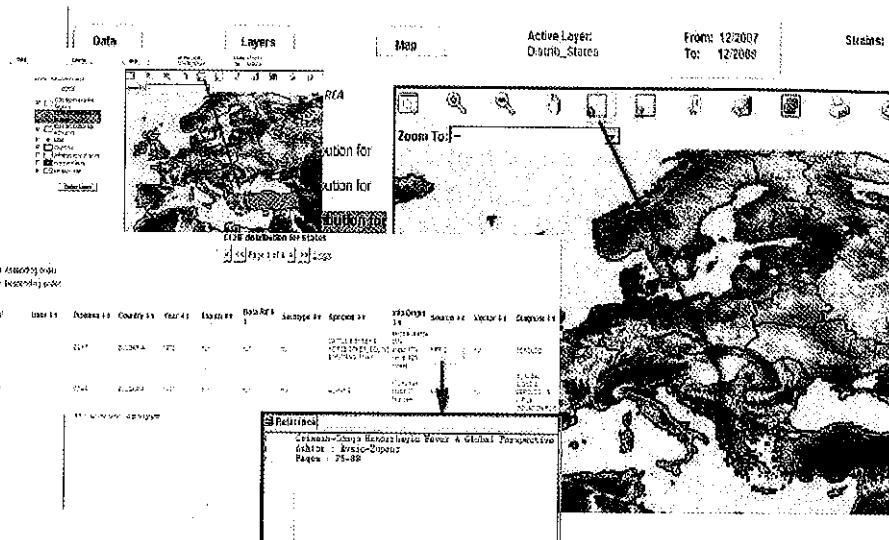
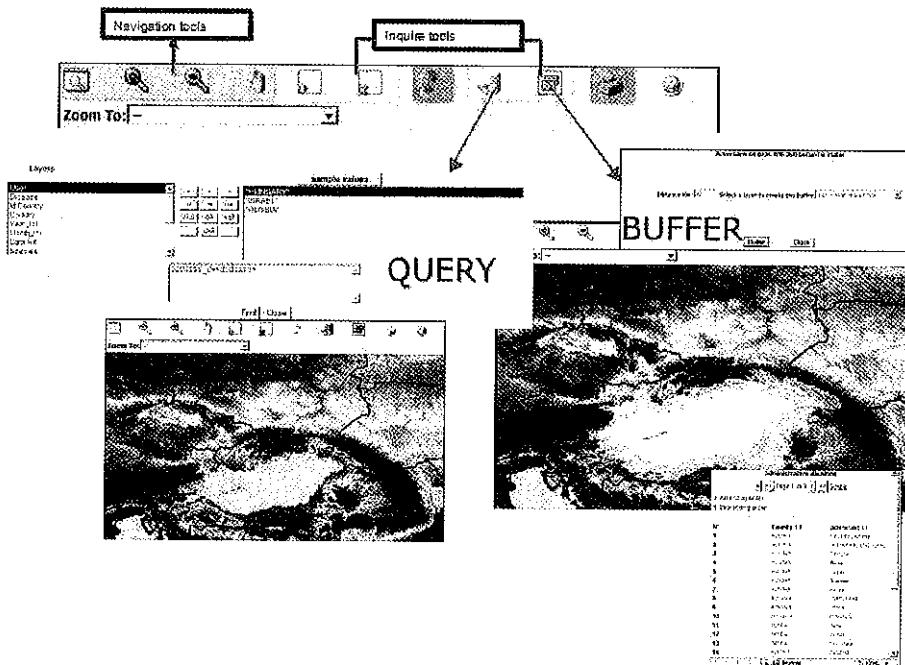


Fig. 14: Spatial distribution of WND and CCHF in Europe and in the Mediterranean Basin.



**Fig. 15:** The access to the data records through the maps.



The data on WNV infection and CCHF is represented on country basis and according to the first administrative subdivision, when this level of detail is available.

At moment the possibility of inserting the latitude and longitude of the animal outbreaks and human case has been not considered. In fact, regarding the information on WND outbreaks in horses, the data currently available in the WAHIS is scarce due to the recent inclusion of WND in the list of notifiable diseases. The great majority of data on WND and CCHF is, therefore, deriving from published papers or from the ProMed system, and the information on latitude and longitude of notified events is extremely rare.

A specific study will be conducted in the future to verify the level of feasibility of assigning the estimated values of latitude and longitude for each WND and CCHF episode, on the basis of the information included in the published paper and/or in the notification report.

## Conclusions

Despite of the risk of occurrence in the Balkan and Mediterranean areas, a clear picture of the geographical distribution (presence/ absence) of the WNV infection and CCHF is still not fully available, although there is evidence of viruses circulation and the presence of competent vectors in the region. Therefore, the need to develop a harmonized surveillance system covering all the area at risk and to improve the diagnostic capabilities among countries should be a prior objective.

The establishment of a web-based GIS network may represent the first step for the standardization of the main epidemiological relevant information on these zoonoses and for planning harmonised surveillance activities. In fact, the collation of the existing available information is the indispensable pre-requisite for a first analysis of the epidemiological situation at international level and to formulate possible criteria for the surveillance of the diseases.

However, it must be reminded that the definition of standardised *case definitions* is a pre-requisites for the establishment of any harmonised surveillance system.

Regarding the case definitions in humans the Commission Decision 2002/253/EC (European Commission, 2002) reports the definitions for CCHF:

- Clinical description: an illness of gradual onset with acute high fever, chills, myalgia, nausea, anorexia, vomiting, headache and backache. Haemorrhagic manifestations may follow.
- Laboratory criteria for diagnosis: Virus isolation, Detection of CCHF virus nucleic acid, positive serology, which may appear late in the course of the disease.

A West Nile Fever human case definition has been developed by the Centers for Diseases Control and Prevention (CDC) ([http://www.cdc.gov/ncphi/disss/nndss/casedef/arboviral\\_current.htm](http://www.cdc.gov/ncphi/disss/nndss/casedef/arboviral_current.htm)). In particular, the case definitions developed by CDC refer to several Neuroinvasive and Non-Neuroinvasive Domestic Arboviral Diseases, including West Nile viruses, and based on the following criteria:

- **Clinical criteria.** Neuroinvasive disease requires the presence of fever and at least one of the following, as documented by a physician and in the absence of a more likely clinical explanation:
  - Acutely altered mental status (e.g., disorientation, obtundation, stupor, or coma), or;
  - Other acute signs of central or peripheral neurologic dysfunction (e.g., paresis or paralysis, nerve palsies, sensory deficits, abnormal reflexes, generalized convulsions, or abnormal movements), or;
  - Pleocytosis (increased white blood cell concentration in cerebrospinal fluid [CSF]) associated with illness clinically compatible with meningitis (e.g., headache or stiff neck).

Non-neuroinvasive disease requires, at minimum, the presence of documented fever, as measured by the patient or clinician, the absence of neuroinvasive disease (above), and the absence of a more likely clinical explanation for the illness. Involvement of

non-neurological organs (e.g., heart, pancreas, liver) should be documented using standard clinical and laboratory criteria.

- **Laboratory criteria for diagnosis.** Cases of arboviral disease are also classified either as confirmed or probable, according to the following laboratory criteria:
  - Confirmed case: four-fold or greater change in virus-specific serum antibody titer, or isolation of virus from or demonstration of specific viral antigen or genomic sequences in tissue, blood, CSF, or other body fluid, or virus-specific immunoglobulin M (IgM) antibodies demonstrated in CSF by antibody-capture enzyme immunoassay (EIA), or virus-specific IgM antibodies demonstrated in serum by antibody-capture EIA and confirmed by demonstration of virus-specific serum immunoglobulin G (IgG) antibodies in the same or a later specimen by another serologic assay (e.g., neutralization or hemagglutination inhibition).
  - Probable case: stable (less than or equal to a two-fold change) but elevated titer of virus-specific serum antibodies, or virus-specific serum IgM antibodies detected by antibody-capture EIA but with no available results of a confirmatory test for virus-specific serum IgG antibodies in the same or a later specimen.

Regarding the veterinary aspects, the passive surveillance in animals may be useful to detect WNV cases on horses, in which the disease appears often with evident symptoms. However, this type of surveillance may reveal the WNV circulation only at later stages of transmission cycle. On the contrary, for CCHF the use of the sole passive surveillance is not helpful, as the disease is completely asymptomatic in animals and the presence of the virus in the environment is detected by the sporadic occurrence in humans.

Consequently, it is of paramount importance to develop and implement an active surveillance system in animal populations and to strengthen human case reporting systems, considering that the vectors are present throughout the entire Mediterranean area and both diseases are sporadically reported (WND) or suspected to be present (WND, CCHF).

A possible case definition for equines might be the following:

- **Clinical criteria:**
  - Confirmed clinical: clinical signs (ataxia, inability to stand, altered mental status) plus laboratory confirmation.
  - Probable clinical: clinical signs plus single positive antibody titer in an unvaccinated animal.
- **Laboratory criteria for diagnosis.** Isolation of virus or IgM from blood or CSF, or 4-fold change in antibody titer.

In addition, it is noteworthy that in both infections part of the viruses transmission cycle involves wild animal species: wild birds for WND and CCHF, and hares and other rodents for CCHF. The surveillance of WND and CCHF, therefore, should include also monitoring activities addressed to wild vertebrate hosts, with the aims of verifying the possible endemisation of the infections as well as to determine the possible source of introduction and spread of infections.

Surveillance activities on wild animals imply that specific skills and professionals must be involved, with particular reference to ornithologists and zoologists.

The collaboration between Medical and Veterinary services, furthermore, is of paramount importance for the proper surveillance and control of these diseases. Detailed protocols must be established for the exchange of information between services and for the interventions in case of suspicion of virus transmission. The development of common information systems, where data derived from the activities of Public Health and Veterinary services may practically enhance the collaboration between services and give a complete epidemiological picture of the situation.

Within the activities to be performed in collaboration between Medical and Veterinary services, the development of health education and communication campaigns towards at risk populations is of great importance. Clear and univocal messages should be addressed to the populations by the two services.

Regarding the surveillance of WNV infection, the following topics must be considered:

- Monitoring activities on possible serum-conversions in equines in at risk areas. Given the late appearance in equines of WNV infection during the transmission season, the sampling activities must be appropriately planned to maximize the probability of detecting the virus activity.
- Surveillance activities on wild birds, to reveal suspected increases in animal mortality or to monitoring the spread of infection along migratory birds routes. The appearance of anomalous mortality rates in some wild birds species (mainly corvids) is not confirmed in all geographical areas. In the United States of America the surveillance of dead birds is considered useful in determining when WNV has spread to a particular area, given the early occurrence of this phenomenon. However, testing of dead birds is not considered useful in USA once WNV has been already established in a particular area. Surveillance activities on the levels of infection in wild birds may be also useful to monitoring the possible entrance and spread of WNV in local fauna. The ecological areas under surveillance, in this case, should be those involved by the main migratory routes from infected countries.
- Use of sentinel chicken flocks, periodically tested, for the early detection of virus circulation. Some concerns exist on the sensitivity of this system and on the effective capacity to detect the virus transmission on early stages. In USA the sentinel chicken surveillance is considered less useful, because human cases precede chicken infections more often than not.
- Surveillance on mosquitoes, to determine the spatial and temporal distribution of the main vector species. Beside the relevant epidemiological information on vectors abundance and seasonality deriving from this type of surveillance, the identification of the main vertebrate hosts, through the DNA analysis of blood in the engorged mosquitoes, may help in building risk maps. In addition testing mosquitoes pool collections for WNV presence has been demonstrated a useful tool in USA for determining when WNV is spreading to a new area.

Regarding the surveillance of CCHF, the following topics must be considered:

- Cross-sectional serological surveys may be performed on domestic animals (especially ruminants) to define areas exposed to the virus infection. It is demonstrated that the occurrence of human cases in farmers and other persons in contact with animals is often linked to high serological prevalence of infection in cattle, sheep and other domestic animals. Samples taken for other purposes or in the context of other surveillance plans may be also used.

- **Surveillance of ticks infestations in domestic animals.** Severe episodes of CCHF and other ticks-borne diseases are often related to massive infestation in domestic animals. The regular and constant observation on the level of ticks infestation may help in planning acaricides treatments during the critical areas and periods of the year.
- **Surveillance on ticks,** to determine the spatial and temporal distribution of the main vector species. The entomological activities, together with the virological testing of the collected ticks, help in the identification of ticks involved in the transmission of infection and their habitats and seasonal dynamics.

## References

- Autorino GL, Battisti A, Deubel V, Ferrari G, Forletta R, Giovannini A, Lelli R, Murri S, and Scicluna MT. (2002). West Nile virus epidemic in horses, Tuscany region, Italy. *Emerging Infectious Diseases*, 8, 12, 1372-1378.
- Burt FJ, Swanepoel R. (2005). Molecular epidemiology of African and Asian Crimean-Congo haemorrhagic fever isolates. *Epidemiol Infect*. Aug;133(4):659-66.
- Cantile C, Di Guardo G, Eleni C, and Arispici M. (2000). Clinical and neuropathological features of West Nile virus equine encephalomyelitis in Italy. *Equine Vet J*, 32, 1, 31-35.
- Chevalier V., S. de la Rocque, T. Baldet, L. Vial & F. Roger (2004). Epidemiological processes involved in the emergence of vector-borne diseases: West Nile fever, Rift Valley fever, Japanese encephalitis and Crimean-Congo haemorrhagic fever Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.; 23 (2), 535-555.
- Couissinier-Paris P. (2006). West Nile virus in Europe and Africa: still minor pathogen, or potential threat to public health? *Bull Soc Pathol Exot*, 99, 5, 348-354.
- Dedushaj I., Humolli I. (2006). [http://www.mzcp-zoonoses.gr/pdf/Session1\\_3\\_DedushajCCHF\\_Kosovo.pdf](http://www.mzcp-zoonoses.gr/pdf/Session1_3_DedushajCCHF_Kosovo.pdf) accessed on 24 th January.
- El-Azazy OM, Scrimgeour EM. (1997). Crimean-Congo haemorrhagic fever virus infection in the western province of Saudi Arabia. *Trans R Soc Trop Med Hyg*; 91: 275-78.
- Ergonul O. (2006). Crimean-Congo haemorrhagic fever *Lancet Infect Dis*; 6: 203-14.
- European Commission. (2002). Commission Decision 2002/253/EC of 19 March 2002 laying down case definitions for reporting communicable diseases to the Community network under Decision No 2119/98/EC of the European Parliament and of the Council. *Official Journal of the European Communities*, 3.4.2002, L 86, 44-62.
- European Commission. (2004). European Neighbourhood Policy – Strategy Paper. COM (2004) 373 final.
- Fisher-Hoch SP, McCormick JB, Swanepoel R, Van Middlekoop A, Harvey S, Kustner HG (1992). Risk of human infections with Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in a South African rural community *Am J Trop Med Hyg* 47: 337-45.
- Han LL, Popovici F, Alexander JPJ, Laurentia V, Tengelsen LA, Cernescu C, Gary HEJ, Ion-Nedelcu N, Campbell GL, and Tsai TF. (1999). Risk factors for West Nile virus infection and meningoencephalitis, Romania. *The Journal of Infectious Diseases*, 179, 230-233.
- Hoogstraal H. (1979). The epidemiology of tick borne Crimean-Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe, and Africa. *J Med Entomol*; 15: 307-417.
- Karti S, Odabasi Z, Korten V, Yilmaz M, Sonmez M, Caylan R, et al. (2004). Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey. *Emerg Infect Dis.*; 19: 1379 – 1384.
- Khan AS, Maupin GO, Rollin PE, Noor AM, Shurie HH, Shalabi AG, Wasef S, Haddad YM, Sadek R, Ijaz K, Peters CJ, Ksiazek TG (1997). An outbreak of Crimean-Congo hemorrhagic fever in the United Arab Emirates, 1994-1995. *Am J Trop Med Hyg*. Nov; 57(5): 519-25.
- Komar N. (2001). West Nile virus surveillance using sentinel birds. *Ann N Y Acad Sci*, 951, 58-73.
- Komar N. (2003). West Nile virus: epidemiology and ecology in North America. *Advances in Virus Research*, 61, 185-234.

- Kramer LD. (2007). Li J, and Shi P-Y, West Nile virus. Lancet Neurol, 6, 171-181.
- Kunchev A, Kojouharova M. (2008). Probable cases of Crimean-Congo-haemorrhagic fever in Bulgaria: a preliminary report. Rapid communications. Eurosurveillance, Volume 13, Issue 17, 24 April 2008.
- International Society for Infectious Diseases – ISID. (2007). Crimean-Congo hemorrhagic fever – Turkey June 11 th 2007 0.26, promed@promed.isid.harvard.edu PRO/EDR.
- Mardani M, Jahromi MK, Naieni KH, Zeinali M. (2003). The efficacy of oral ribavirin in the treatment of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Iran. Clin Infect Dis; 36: 1613-18.
- OIE World Organisation for Animal Health. (2004). Handbook on Import Risk Analysis for Animals and Animal Products. Introduction and qualitative risk analysis, Vol. I, 60 pp.
- OIE World Organisation for Animal Health. (2005). Fourth Strategic Plan 2006 – 2010, 32 pp.
- OIE World Organisation for Animal Health. (2007). Terrestrial Animal Health Code, 16th Edition, 2007.
- Owen J, Moore F, Panella N, Edwards E, Bru R, Hughes M, and Komar N, Migrating birds as dispersal vehicles for West Nile virus. (2006). EcoHealth DOI: 10.1007/s10393-006-0025-9.
- Papa A, Bino S, Llagami A, Brahimaj B, Papadimitriou E, Pavlidou V. (2002). Crimean-Congo hemorrhagic fever in Albania,. Eur J Clin Microbiol Infect Dis.; 21:603-6.
- Papa A., Christova I., Papadimitriou E., and Antonis Antoniadis Crimean-Congo hemorrhagic fever in Bulgaria (2004). Emerging Infectious Diseases Vol. 10, No. 8, August 2004.
- Pappaioanou M. (2004). Veterinary medicine protecting and promoting the public's health and well-being. Prev. vet. Med; 62 (3), 153-163.
- Paweska J (2007). Epidemiology and laboratory diagnosed cases of CCHF in Southern Africa. Presentation N° 21 006 International Meeting on Emerging Infectious Diseases Vienna 23-25 February 2007.
- Reisen W, and Brault AC. (2007). West Nile virus in North America: perspectives on epidemiology and intervention. Pest Manag Sci, 63, 641-646.
- Savage HM, Ceianu C, Nicolescu G, Karabatsos N, Lanciotti RS, Vladimirescu A, Laiv L, Ungureanu A, Romanca C, and Tsai TF. (1999). Entomologic and avian investigations of an epidemic of West Nile fever in Romania in 1996, with serologic and molecular characterization of a virus isolate from mosquitoes. Am J Trop Med Hyg, 61, 4, 600-611.
- Sejvar JJ, Haddad MB, Tierney BC, Campbell GL, Marfin AA, Van Gerpen JA, Fleischauer A, Leis AA, Stokic DS, and Peterson LR. (2003). Neurologic manifestation and outcome of West Nile virus infection. JAMA, 290, 511-515.
- Smirnova SE. (2005). Circulation of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in the Stavropol territory in the seasons of 1999-2000 Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol; (3): 49-53. [Article in Russian].
- Swanepoel R., Shepherd A., Leman P.A., Shepherd S.P., McGillivray G.M., Erasmus M.J., Searle L.A. & Gill D.E. (1987). Epidemiologic and clinical features of Crimean-Congo hemorrhagic fever in southern Africa. Am. J. trop. Med. Hyg; 36 (1), 120-132.
- Swanepoel R. (1995). Nairovirus infections. Exotic viral infections (J.S. Porterfield, ed.). Chapman and Hall, London, 285-293.

- Swanepoel R. (2006). [www.mzcp-zoonoses.gr/pdf/Session5\\_1\\_SwanepoelTickEpidemiology.pdf](http://www.mzcp-zoonoses.gr/pdf/Session5_1_SwanepoelTickEpidemiology.pdf) accessed on January 24 th 2008.
- Tantawi HH, Al-Moslih MI, Al-Janabi NY. (1980). Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in Iraq: isolation, identification and electron microscopy. Acta Virol 1980; 24: 464-67.
- Tsai TF, Popovici F, Cernescu C, Campbell GL, and Nedelcu NI. (1998). West Nile encephalitis epidemic in Southeastern Romania. Lancet, 352, 767-771.
- Uzun R. (2006) [http://www.mzcp-zoonoses.gr/pdf/Session1\\_8\\_UzunCCHF\\_Turkey.pdf](http://www.mzcp-zoonoses.gr/pdf/Session1_8_UzunCCHF_Turkey.pdf) accessed on 24 th 2008.
- Williams RJ, Al-Busaidy S, Mehta FR. (2000). Crimean-Congo haemorrhagic fever: a seroepidemiological and tick survey in the Sultanate of Oman. Trop Med Int Health; 5: 99-106.
- Zeller H.G., Cornet J.P. & Camicas J.L. (1994). Experimental transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus by west African wild ground-feeding birds to *Hyalomma marginatum rufipes* ticks. Am. J. trop. Med. Hyg; 50 (6), 676-681.

Finito di stampare nel mese di giugno 2008  
da IDEAMORPHOSY S.r.l.  
Via Andrea del Castagno, 48 - 00144 Roma



Regione Abruzzo



Assessorato all'Agricoltura

Regione Abruzzo - Direzione Agricoltura,  
Foreste e Sviluppo Rurale, Alimentazione Caccia e Pesca



Regione Molise - Assessorato alle Politiche Sanitarie  
Servizio di Medicina Veterinaria e Alimentazione Umana

**Regione Emilia-Romagna**



Regione Emilia-Romagna - Assessorato alla Sanità  
e Politiche Sociali Servizio Veterinario e Igiene degli Alimenti

**Izs**  
ISTITUTO ZOOPROFILATTICO  
Sperimentale dell'Abruzzo  
e del Molise - TERAMO  
G. CAPORALE

Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale" IZSAM



Hrvatski Veterinarski Institut

**HAH**  
CROATIAN FOOD AGENCY

Hrvatska Agencija za Hranu



Institute of Marine Biology  
Kotor, Montenegro

Institut za Biologiju Mora

**Oie**

World Organization for Animal Health