

# Descrizione e realizzazione di una rete di sorveglianza per la bluetongue nei Balcani e nelle aree limitrofe dell'Europa sud orientale

F. Dall'Acqua, C. Paladini, R. Meiswinkel, L. Savini & P. Calistri

## Riassunto

Con le ultime epidemie di bluetongue (BT) nel bacino del Mediterraneo, la circolazione del virus della BT (BTV) ha superato i suoi confini storici fino a raggiungere la regione dei Balcani. Uno dei principali effetti negativi della BT è legato all'impatto economico e sociale causato dalle misure intraprese per il suo controllo, come ad esempio il blocco delle movimentazioni e del commercio delle specie sensibili. Gli autori descrivono brevemente le fasi legate allo sviluppo di un programma di collaborazione (East-Btnet) il cui obiettivo principale era quello di fornire assistenza nella gestione della BT per lo sviluppo di sistemi nazionali integrati di sorveglianza ai Paesi dei Balcani, colpiti dalla malattia o considerati a rischio di introduzione. I Paesi coinvolti sono stati: Albania, Bosnia-Erzegovina, Bulgaria, Croazia, Cipro, Macedonia, Kosovo, Malta, Romania, Serbia e Montenegro, Slovenia e Turchia; il progetto è stato affidato al Centro di Collaborazione OIE per la formazione veterinaria, l'epidemiologia, la sicurezza alimentare e il benessere animale dell'Istituto Zooprofilattico dell'Abruzzo e del Molise 'G. Caporale' (OIE CC-IZSA&M) in collaborazione con l'Institute for the Protection and the Security of the Citizen, the European Commission Joint Research Centre (IPSC-JRC). In questo lavoro è descritta e discussa la realizzazione di una rete di sorveglianza regionale basata sull'uso di applicativi web

in grado di valutare in tempo reale la situazione epidemiologica della BT e quindi pianificare tutte le misure di controllo.

## Parole chiave

Balcani, Bluetongue, *Culicoides*, Europa, Rete di Sorveglianza, Sistemi Informativi Geografici, Websites.

## Introduzione

La bluetongue (BT) o febbre catarrale degli ovini è una malattia infettiva, non contagiosa, trasmessa da insetti vettori del genere *Culicoides* (11) che colpisce i ruminanti e si manifesta clinicamente soprattutto negli ovini (26). Sebbene l'infezione nel bovino si manifesti in forma asintomatica, questo ricopre un ruolo importante nell'epidemiologia della malattia se si considera che in questa specie la viremia può durare fino a 63 giorni dall'infezione (2, 4). L'agente eziologico è un virus appartenente alla Famiglia Reoviridae, Genere Orbivirus di cui ad oggi si conoscono 24 sierotipi (26).

Nel bacino del Mediterraneo la presenza della BT è stata rilevata per la prima volta a Cipro nel 1943 (16) e successivamente in Israele (56). Inoltre, tra il 1956 e il 1960, in Spagna e Portogallo ha causato la morte di quasi 179 000 pecore (27). Mentre nell'area orientale del bacino la bluetongue ha dimostrato di manifestarsi in maniera più regolare e frequente; infatti, negli anni '70 e '80 è stata notificata annualmente in Israele (54), Cipro,

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale" (OIE CC IZSA&M), Campo Boario, 64100 Teramo, Italia  
World organisation for animal health (Office International des Épizooties) Collaborating Centre for Veterinary Training, Epidemiology, Food Safety and Animal Welfare

Turchia e nelle isole greche di Lesbo e Rodi (50). Dal 1998, la BT si è diffusa in modo straordinario nel bacino del Mediterraneo interessando anche la regione dei Balcani e superando di quasi 400 km i confini più a nord raggiunti dalle precedenti epidemie. Nello stesso periodo, infatti, cinque sierotipi (BTV-1, -2, -4, -9 e -16) hanno interessato diversi Paesi, molti dei quali per la prima volta (30, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49). Tra tutti questi, l'Italia è stato quello maggiormente colpito registrando una perdita di più di 520 000 pecore nel corso delle prime tre stagioni epidemiche (2000-2002). Tali perdite sembrano legate alla elevata patogenicità del sierotipo coinvolto (BTV-2), alla alta sensibilità delle pecore di razza sarda e infine alla grande abbondanza del *Culicoides imicola* (6) nella zona colpita. Al contrario, negli altri Paesi dell'area oggetto di studio, i danni diretti sono stati limitati sia a causa della minore patogenicità dei sierotipi coinvolti e sia a causa della bassa capacità vettoriale delle altre specie di *Culicoides* considerate vettori secondari. Ad ogni modo, tutti i Paesi interessati dalla circolazione del BTV hanno risentito in maniera analoga delle restrizioni commerciali a causa del blocco delle movimentazioni (13). Nel mondo la BT è trasmessa da circa 30 specie di *Culicoides* (29), mentre in Europa meridionale i quattro vettori sono *C. imicola*, *C. obsoletus*, *C. scoticus* e *C. pulicaris* (8, 21, 52, 55); tra questi, *C. imicola* è una specie Afro-asiatica responsabile per il 90% della trasmissione della BT. Nonostante l'importanza che ricopre, la sua scoperta lungo i confini settentrionali del bacino del Mediterraneo risale solo ai primi anni ottanta, mentre la sua comparsa in Italia è registrata a partire dal 2000 (19). L'esatta distribuzione geografica del *C. imicola* non è ancora ben conosciuta quindi è difficile comprendere se l'interessamento di territori più a nord sia una conseguenza del global warming, così come più volte ipotizzato (50). Gli altri tre vettori,

endemici nella zona Paleoartica e presenti fino al 60° parallelo nord, pongono quindi, una vasta zona continentale a rischio di trasmissione della BT. Ad oggi mancano ancora conoscenze fondamentali quali la loro esatta distribuzione e abbondanza ma soprattutto la loro capacità di trasmettere il virus e la capacità di questo a replicare all'interno del vettore. Per la raccolta dei *Culicoides* è utilizzata un particolare tipo di trappola prodotta dall'Onderstepoort Veterinary Institute (Sudafrica) il cui uso permette di avere informazioni utili sulla distribuzione e abbondanza dei *Culicoides* nelle aree di studio. Inoltre, se la raccolta è effettuata contemporaneamente con la registrazione di alcune variabili climatiche importanti per l'ecologia del vettore, molte altre conoscenze possono essere acquisite sulla loro attività stagionale. Forme più sofisticate di raccolta di informazioni, essenziali nella produzione di mappe di rischio di diffusione della BT, sono quelle che utilizzano immagini satellitari.

L'importanza economica della BT deriva dal fatto che può causare la morte delle pecore o un calo delle produzioni. Il danno maggiore, comunque, è determinato dal blocco del commercio di animali vivi, embrioni, ovuli e seme (15). Infatti, alla fine degli anni '70, il divieto dell'esportazione del seme bovino dagli USA ha causato una perdita annuale stimata di 24 milioni di dollari (15, 17). Tra gli obiettivi e le priorità individuate dalla legge 84 del 2001 è ben espressa la necessità di sostenere l'agricoltura e la sicurezza alimentare nei Balcani con l'obiettivo primario dichiarato di ridurre la povertà rurale (1). Tale malattia assume quindi maggiore importanza se si considera che nei Balcani la popolazione di animali è di circa 18 milioni di pecore e capre e 7 milioni di bovini (14).

Il controllo della BT non può avvenire esclusivamente attraverso il bando del commercio di animali sensibili, proprio in virtù del carattere transfrontaliero di questa malattia trasmessa da vettori. Perciò, le misure di controllo adottate dai

singoli Paesi devono essere applicate anche da quelli limitrofi allo scopo di non renderle inefficienti. A seguito delle recenti epidemie di BT verificatesi in Europa, i Paesi colpiti e quelli a rischio di infezione hanno espresso la necessità di sviluppare una rete di sorveglianza della BT. Questo ha portato alla ideazione del progetto "Cooperazione per l'istituzione di una rete di sorveglianza per la bluetongue nell'area balcanica" con inizio nel maggio del 2004.

I Paesi coinvolti nel progetto sono stati: Albania, Bosnia-Erzegovina, Bulgaria, Croazia, Cipro, Macedonia, Kosovo, Malta, Romania, Serbia e Montenegro, Slovenia e Turchia. La Croazia e la Romania sono state selezionate come Paesi pilota dal momento che avevano già iniziato un programma di sorveglianza (24, 25; A. Ionescu comunicazione personale).

L'obiettivo generale del progetto era di definire e standardizzare misure comuni per l'armonizzazione di una rete di sorveglianza regionale in grado di permettere una valutazione continua della situazione epidemiologica della BT e quindi pianificare ed attivare tutte le misure necessarie a prevenire e controllare il rischio di diffusione della malattia o dell'infezione avvalendosi anche della tecnologia dei sistemi informativi geografici (GIS).

Il sistema è stato studiato per fornire una chiara immagine della distribuzione regionale della BT e creare una fonte comune di dati per ulteriori analisi e per lo scambio di informazioni. Questo lavoro descrive le fasi seguite nella realizzazione della rete di sorveglianza, le sue potenzialità e il contenuto del sito web. Infine, è discussa la possibilità di estendere il sistema di sorveglianza ad altri Paesi e malattie.

## Materiali e Metodi

### *Valutazione dei sistemi*

#### *di sorveglianza della BT esistenti*

Prima della realizzazione di una rete di sorveglianza

a livello regionale e della stesura di procedure standard è necessario conoscere:

- i sistemi di sorveglianza già esistenti
- le attrezzature diagnostiche e i reagenti utilizzati
- le capacità professionali e quindi i corsi di formazione necessari al loro miglioramento
- la disponibilità di strumenti informatici (hardware e software) per la gestione dei dati e per gli studi epidemiologici.

Per ottenere queste importanti informazioni, ai referenti nazionali dei servizi veterinari, è stato inviato nel marzo del 2004 un questionario di valutazione dei bisogni diviso in quattro sezioni:

#### **Sezione A: Sorveglianza clinica della malattia**

In questa sezione del questionario sono state richieste informazioni utili per valutare la capacità di riconoscere la malattia mediante un programma di sorveglianza clinica. Nel caso dei Paesi con questo tipo di sorveglianza, il questionario richiedeva il tipo di informazioni raccolte durante l'attività di sorveglianza e nel caso di focolaio clinico anche i test di laboratorio utilizzati per la diagnosi.

#### **Sezione B: Sorveglianza entomologica**

Nella sezione B, il questionario raccoglieva informazioni sul programma di sorveglianza dei *Culicoides* esistente, cioè il tipo, il numero e la distribuzione delle trappole utilizzate, il periodo dell'anno in cui sono attive, la distribuzione e la frequenza di raccolta di campioni, il tipo di informazioni registrate e la capacità del laboratorio nell'analisi dei campioni.

#### **Sezione C: Sorveglianza sierologica**

Nella sezione C sono state raccolte informazioni sui programmi di sorveglianza sierologica eventualmente esistenti. Tra le informazioni principali richieste vi era il tipo di sorveglianza e il periodo dell'anno in cui si effettuava, la specie animale, la frequenza dei campioni raccolti, i dati registrati sulla scheda di accompagnamento del campione ed i test impiegati in laboratorio.

#### Sezione D: Sistema informativo

Nella sezione D le informazioni raccolte riguardavano: il tipo di software impiegato nella registrazione, raccolta, aggregazione ed analisi dei dati, la modalità di divulgazione delle informazioni e la qualifica del personale coinvolto nella sorveglianza della BT.

La Tabella I riporta una sintesi delle informazioni richieste nel questionario.

Le informazioni raccolte durante i sopralluoghi effettuati nei Paesi pilota (Croazia e Romania) hanno stabilito il livello di training, le attrezzature di laboratorio e l'hardware e il software da utilizzare nella sorveglianza della BT. In seguito, sono stati organizzati un totale di sette workshop tenuti in Croazia, Cipro, Grecia, Italia, Romania e Turchia.

#### Standardizzazione di procedure operative comuni

L'esperienza acquisita dall'Italia durante le prime epidemie di BT ha permesso di sviluppare, nel corso del tempo, procedure standard per la raccolta di dati entomologici e sierologici con lo scopo ultimo di facilitarne sia l'analisi sia la comparazione. Per quanto riguarda il programma di sorveglianza entomologica è stata definita l'unità geografica di riferimento di 400 km<sup>2</sup>; in ogni cella è stato previsto il posizionamento di una trappola per la cattura di *Culicoides* con frequenza di raccolta settimanale. Inoltre, è stato descritto il protocollo dettagliato per il posizionamento della trappola, i criteri di scelta del sito di cattura e la metodologia di raccolta e di analisi del campione (20). Per rendere omogeneo il programma di sorveglianza sierologica, è stato raccomandato l'utilizzo di test diagnostici e kit di laboratorio comuni, così come sono state suggerite differenti tipologie di sorveglianza da adottare (per esempio utilizzo di un sistema di sentinelle basato su animali negativi e/o sorveglianza periodica delle popolazioni sensibili). Al fine di comparare i dati generati dai diversi sistemi di sorveglianza nazionali, sono stati creati dei modelli standard

di schede di accompagnamento dei campioni entomologici e sierologici. Inoltre, per la corretta e funzionale gestione delle informazioni raccolte è stato implementato un sistema informativo e un correlato sistema informatico. Tale sistema prevede la raccolta di informazioni obbligatorie e facoltative. I dati obbligatori sono: Paese, provincia, data di raccolta del campione e il codice identificativo dell'azienda. Nella sorveglianza sierologica sono richiesti inoltre, il tipo di sorveglianza e di test effettuati, il numero di animali positivi e il totale degli esaminati, il sierotipo presente e la specie animale. I dati obbligatori aggiuntivi per la sorveglianza entomologica sono il numero totale di: insetti, *Culicoides* spp., *C. imicola*, Complesso dell'Obsoletus e del Pulicaris. Tra i dati facoltativi richiesti ricordiamo: denominazione dell'azienda, altitudine, latitudine, longitudine e temperatura massima e minima registrata durante la notte della cattura (Tabella I).

#### Realizzazione e sviluppo del sito web East-BTnet

Per armonizzare la raccolta e la gestione di dati epidemiologici generati dai servizi veterinari dei vari Paesi è stato progettato e realizzato un network di sorveglianza basato su applicazioni web ([www.east-btnet.izs.it](http://www.east-btnet.izs.it)). Il sito web si articola nelle seguenti sezioni (Fig. 1):

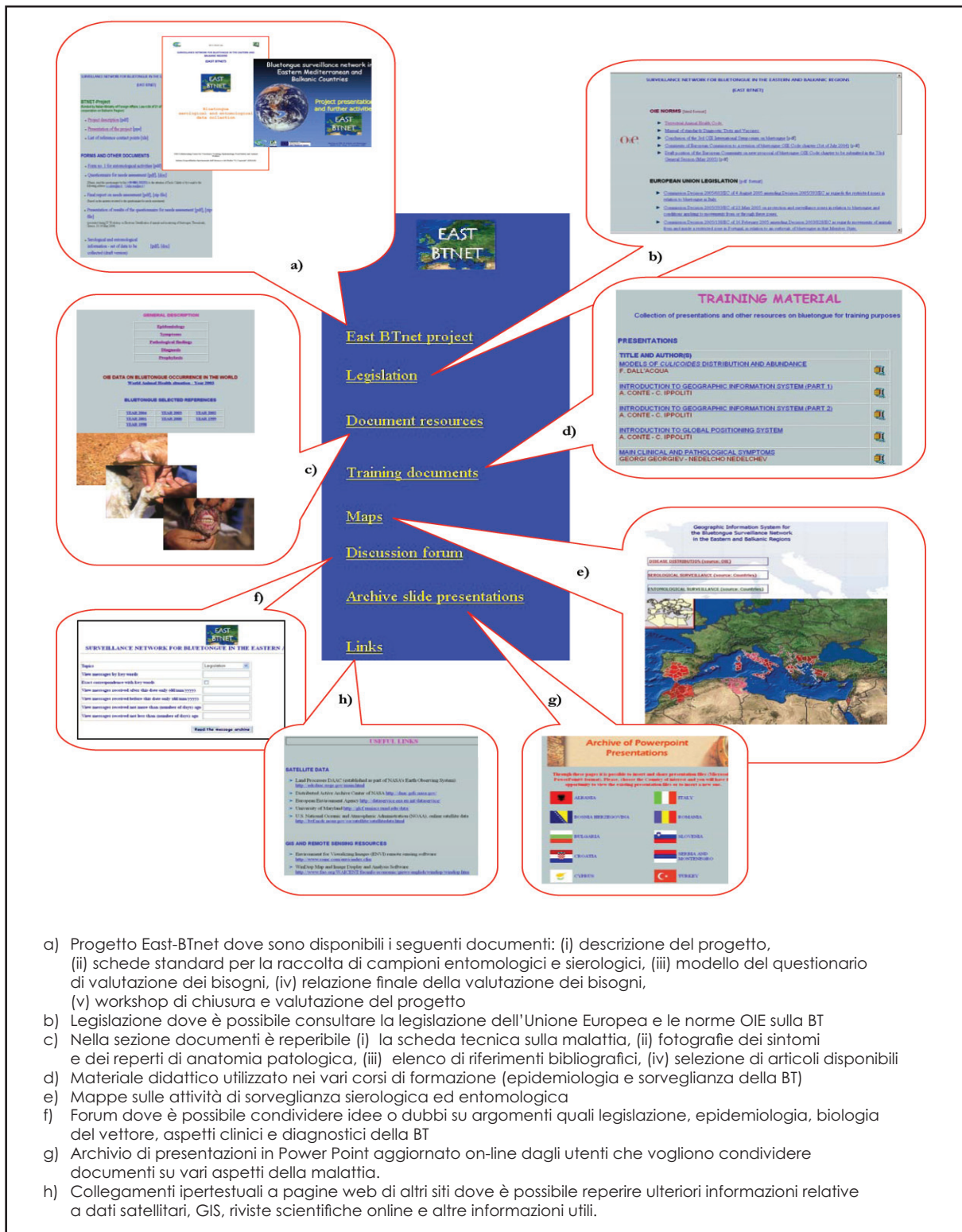
- East-BTnet project
- legislazione
- documenti
- materiale didattico
- mappe
- forum
- archivio di presentazioni in Power Point
- links.

Il sito web è accessibile attraverso l'uso di un generico browser di pubblico dominio; solo alcune sezioni del sito necessitano di password (mappe, forum, archivio di presentazioni in Power Point). Gli utenti autorizzati, come i referenti dei Paesi

Tabella I  
Tipologia di informazioni richieste nel questionario per la valutazione dei bisogni

Sezione A Sorveglianza clinica della malattia	Sezione B Sorveglianza entomologica	Sezione C Sorveglianza sierologica	Sezione D Sistema informativo
La BT è una malattia notificabile? E' stato implementato un programma di sorveglianza clinica? Se sì, dove viene effettuata la sorveglianza? - in tutto il Paese - vicino ai confini delle zone a rischio o delle zone infette - solo nelle zone infette - altrove Che tipo di informazioni sono registrate in caso di focolaio clinico? - codice identificativo dell'azienda - data della visita - data dell'insorgenza della malattia - numero di animali delle specie sensibili presenti in azienda - specie animali sensibili presenti in azienda - numero di animali malati - numero di animali morti - numero di animali abbattuti - tipo di campioni (sangue o organi) raccolti - cattura di insetti	Esistono sistemi di sorveglianza entomologica? Tipologia trappole usate: - Onderstepoort - altro (specificare) Quando viene effettuata la sorveglianza? - tutto l'anno - stagionalmente Quale è la frequenza di raccolta del campione? - tutti i giorni - settimanalmente - ogni 15 giorni - mensilmente Che tipo di informazioni sono registrate per ogni campione raccolto? - codice identificativo dell'azienda - data della cattura - specie di animali sensibili presenti in azienda - numero di animali delle specie sensibili presenti in azienda - temperatura minima e massima registrata durante la notte della cattura Dove sono analizzati i campioni raccolti? - in laboratori nazionali - in laboratori stranieri Quali informazioni sono registrate con l'analisi del campione? - presenza/assenza di <i>Culicoides</i> spp. - numero totale di insetti - numero totale di <i>Culicoides</i> - numero totale di <i>C. imicola</i> - numero totale del Complesso dell' <i>obsoletus</i> - numero totale del Complesso del <i>pulicaris</i>	Esistono sistemi di sorveglianza sierologica? Se sì, che tipo di sistema è stato implementato? - un sistema di sentinelle e/o - sorveglianza periodica Quali sono le specie animali oggetto della sorveglianza? Dove viene effettuata la sorveglianza? - in tutto il Paese - vicino ai confini delle zone a rischio o delle zone infette - solo nelle zone infette Quando viene effettuata la sorveglianza sierologica? - tutto l'anno - stagionalmente Con quale frequenza gli animali sono testati? - settimanalmente - ogni 15 giorni - mensilmente Quali sono le informazioni registrate per ogni campione? - indirizzo dell'azienda - codice identificativo dell'azienda - data di raccolta del campione - specie animali sensibili presenti in azienda - codice identificativo di ogni animale - età dell'animale Quali sono i test sierologici e virologici utilizzati? - C-ELISA - immunodiffusione in gel di agar (AGID) - sieroneutralizzazione virale - polymerase chain reaction (PCR) - isolamento virale Dove sono analizzati i campioni raccolti? - in laboratori nazionali - in laboratori stranieri	Esistono sistemi informativi? Come viene rilevata la posizione geografica dell'azienda e/o del sito di cattura? - con il GPS - utilizzando mappe - altro Quali sono i software utilizzati per analizzare i dati? - Microsoft Excel® - Microsoft Access® - software geografici (ArcView®, ArcGIS®, MapGuide®) - STATA 7.0® - altro Sono raccolte e registrate ulteriori informazioni? - variabili climatiche - variabili ambientali - caratteristiche del suolo I risultati sono divulgati a terzi? Come avviene la divulgazione dei risultati? - bollettini di informazione - o notiziari periodici - via Internet - pubblicati su riviste scientifiche - relazioni mensili - tramite media - durante i congressi

BT bluetongue-



- Progetto East-BTnet dove sono disponibili i seguenti documenti: (i) descrizione del progetto, (ii) schede standard per la raccolta di campioni entomologici e sierologici, (iii) modello del questionario di valutazione dei bisogni, (iv) relazione finale della valutazione dei bisogni, (v) workshop di chiusura e valutazione del progetto
- Legislazione dove è possibile consultare la legislazione dell'Unione Europea e le norme OIE sulla BT
- Nella sezione documenti è reperibile (i) la scheda tecnica sulla malattia, (ii) fotografie dei sintomi e dei reperti di anatomia patologica, (iii) elenco di riferimenti bibliografici, (iv) selezione di articoli disponibili
- Materiale didattico utilizzato nei vari corsi di formazione (epidemiologia e sorveglianza della BT)
- Mappe sulle attività di sorveglianza sierologica ed entomologica
- Forum dove è possibile condividere idee o dubbi su argomenti quali legislazione, epidemiologia, biologia del vettore, aspetti clinici e diagnostici della BT
- Archivio di presentazioni in Power Point aggiornato on-line dagli utenti che vogliono condividere documenti su vari aspetti della malattia.
- Collegamenti ipertestuali a pagine web di altri siti dove è possibile reperire ulteriori informazioni relative a dati satellitari, GIS, riviste scientifiche online e altre informazioni utili.

partecipanti al progetto, possono accedere alla consultazione e all'aggiornamento dei dati di propria competenza, mentre l'amministratore del sistema (OIE CC-IZSA&M) non ha limiti di accesso. La parte del sito di libero accesso permette la consultazione di pagine web con:

- informazioni generali sulla malattia, legislazione, documenti tecnici e articoli scientifici in formato Microsoft® Word oppure in Adobe® pdf
- il materiale didattico utilizzato durante i corsi di formazione
- mappe dinamiche per la visualizzazione della distribuzione geografica annuale dei sierotipi di BTV. La fonte dei dati è l'OIE weekly *Disease Information*, mentre l'OIE CC-IZSA&M è responsabile dell'aggiornamento del database contenente i dati visualizzati.

Il database relativo alle attività entomologiche e sierologiche è aggiornato direttamente on-line dagli utenti autorizzati; viene utilizzata una interfaccia web per l'inserimento di dati la cui visualizzazione in tempo reale è possibile sia in forma tabellare sia con mappe. Inoltre, per fornire assistenza agli utenti nelle varie operazioni, è stata creata una guida on-line completa di esempi per un facile uso degli strumenti GIS.

### **Attività di supporto**

#### **Corsi di formazione**

Sono stati organizzati diversi corsi di formazione per i servizi veterinari dei Paesi coinvolti; le aree tematiche trattate sono state:

- epidemiologia
- sierologia e virologia
- biologia del vettore e identificazione dei *Culicoides* spp.
- utilizzo del GIS e del global positioning system (GPS)
- scelta del luogo per l'installazione e uso delle stazioni meteorologiche automatiche
- scelta del sito di cattura e utilizzo della trappola per *Culicoides* spp.

### **Attrezzature**

Sulla base delle informazioni acquisite dall'analisi dei bisogni effettuata sia con l'ausilio del questionario sia con le visite *in loco*, l'OIE CC-IZSA&M ha acquistato e consegnato ai Paesi pilota le apparecchiature diagnostiche necessarie per l'esecuzione dei test sierologici e virologici e per l'analisi dei campioni entomologici. Tra le attrezzature di laboratorio fornite si ricordano: stereomicroscopio per dissezione a luce laterale, microscopio invertito, sonicatore, bagnomaria, incubatore a CO<sub>2</sub>, frigorifero verticale +2°C / +8°C, contenitore per azoto liquido, pipette multicanale, sperauova *et caetera*. Inoltre, sono state fornite stazioni meteorologiche automatiche con i rispettivi sensori (per registrare la temperatura dell'aria, l'umidità relativa, la velocità del vento e la sua direzione, la temperatura e l'umidità del suolo) e gli hardware e software necessari all'analisi e alla gestione dei dati geografici ed epidemiologici. Tutta l'attrezzatura è stata esaminata ed installata nei laboratori o nelle unità operative epidemiologiche. Tutti i dodici Paesi sono stati forniti delle trappole per la cattura dei *Culicoides* (tipo Onderstepoort) e di GPS da utilizzare per le operazioni di georeferenziazione.

### **Risultati**

#### **Valutazione dei sistemi di sorveglianza della BT esistenti**

Dallo studio e analisi delle risposte del questionario di valutazione dei bisogni è emerso che le attività di sorveglianza della BT non erano omogenee all'interno dei dodici Paesi coinvolti nel progetto.

#### **Sezione A: Sorveglianza clinica della malattia**

Sebbene in tutti i Paesi la BT fosse una malattia notificabile, non tutti avevano implementato un programma di sorveglianza clinica. Le attività di sorveglianza messe in atto apparivano varie e svolte in modo non omogeneo: in tutto il Paese (8/12), vicino ai confini delle zone infette (4/12)

e/o nelle zone infette (4/12). Le informazioni di base raccolte in caso di focolai clinici erano: data della visita clinica e di inizio della malattia (comparsa sintomatologia), specie animale, numero di animali suscettibili presenti nell'azienda, numero di animali malati/morti/macellati e il tipo di campione prelevato (siero, sangue, organi).

#### **Sezione B: Sorveglianza entomologica**

Dei dodici Paesi coinvolti sei avevano già un programma di sorveglianza entomologica anche se l'intensità delle attività svolte era molto differente. Il tipo di trappola utilizzata per la cattura dei *Culicoides* era quella tipo Onderstepoort (Sudafrica); nella maggior parte dei casi operava soprattutto stagionalmente e solo in un Paese durante tutto l'anno. La raccolta dei campioni era effettuata a diversi intervalli di tempo: giornalmente, settimanalmente, ogni 15 giorni o mensilmente. Solo alcuni Paesi disponevano di esperti nell'identificazione dei *Culicoides*, mentre gli altri spedivano i campioni da identificare a laboratori stranieri. Le informazioni registrate alla raccolta del campione erano: data della cattura, specie animali presenti in azienda e la temperatura minima e massima registrata durante la notte della cattura. All'esame del campione, le informazioni registrate erano il numero totale di: insetti catturati, *Culicoides* spp., *C. imicola*, Complesso dell'*Obsoletus* e del *Pulicaris*.

#### **Sezione C: Sorveglianza sierologica**

Tutti i Paesi, eccetto uno, effettuavano una sorveglianza sierologica con diversi livelli di intensità: ogni 15 giorni (1/12), mensilmente (5/12), occasionalmente (4/12) oppure nel corso di campagne di eradicazione per altre malattie (1/12). Alcuni Paesi (8/12) raccoglievano campioni con metodo random, mentre altri (3/12) testavano periodicamente anche campioni provenienti da animali sentinella. A seconda degli obiettivi prefissati da ciascun Paese, la sorveglianza era condotta, da un punto di vista temporale,

stagionalmente (5/12) o durante tutto il periodo dell'anno (6/12) mentre, da un punto di vista territoriale era effettuata in tutto il Paese (7/12), vicino ai confini delle zone infette (2/12) e/o nelle zone infette (3/12). Nei Paesi dove la sorveglianza sierologica era effettuata, il test utilizzato era c-ELISA; oltre a questo alcuni usavano anche il test di immunodiffusione in gel di agar (AGID) (4/12) e solo due il test della sieroneutralizzazione virale. Quattro Paesi avevano i laboratori attrezzati per eseguire l'isolamento virale, due per il test della virus neutralizzazione e uno della polymerase chain reaction (PCR). Gli altri Paesi spedivano il materiale da analizzare presso laboratori internazionali di referenza.

#### **Sezione D: Sistema Informativo**

Per quanto riguarda le informazioni relative ai sistemi informativi esistenti in ciascun Paese, è emerso che quasi tutti (11/12) raccoglievano informazioni sulla sorveglianza clinica, sierologica ed entomologica della BT; la registrazione avveniva su carta (9/12) e su supporto informatico (11/12) utilizzando diversi tipi di software come Microsoft® Excel (6/12), Microsoft® Access (2/12), STATA®7.0 (1/12), Microsoft® FoxPro® (1/12) e Microsoft® FoxPlus (1/12). Tre Paesi utilizzavano anche software GIS. Per la rilevazione delle coordinate geografiche dei siti di cattura o delle aziende erano utilizzati GPS portatili (2/12) oppure mappe su carta (6/12).

#### **Corsi di formazione**

Tutti i Paesi hanno espresso il desiderio di rafforzare e/o migliorare le proprie conoscenze ed esperienze nei diversi aspetti della BT (epidemiologia, sorveglianza clinica, entomologia, virologia, sierologia) partecipando a corsi di formazione nazionali ed internazionali su:

- le capacità diagnostiche per le attività di sierologia, virologia ed entomologia
- la sorveglianza epidemiologica
- uso ed applicazione dei sistemi GIS.



Gli argomenti trattati durante i corsi di formazione sono riportati in maggior nella Tabella II. Il materiale didattico è disponibile sul sito web nella omonima sezione.

**Realizzazione e sviluppo  
del sito web East-BTnet**

Il sito web realizzato ([www.east-btnet.izs.it](http://www.east-btnet.izs.it)) permette di:

- condividere informazioni sulla BT; le pagine interattive del sito web sono corredate di molti links che permettono di reperire informazioni

generali sul progetto, la principale legislazione dell'Unione Europea e gli standard sulla BT dettati dall'OIE; a questo si aggiunge la possibilità di discutere problematiche legate alla malattia in un apposito forum

- accedere a documenti tecnici e a pubblicazioni scientifiche sulla BT
- immettere dati sulla distribuzione geografica dei sierotipi del BTV e delle specie di *Culicoides*
- interrogare il database e utilizzare gli strumenti GIS.

Tabella II

Aree tematiche trattate durante i corsi di formazione al personale dei servizi veterinari sui vari aspetti della bluetongue

Area	Descrizione
Epidemiologia	L'epidemiologia della BT nel mondo Strategie di controllo della malattia Legislazione europea ed italiana Discussione sui recenti cambiamenti del Codice Zoosanitario dell'OIE sulla BT Distribuzione geografica della BT nel bacino del Mediterraneo Protocolli di sorveglianza entomologica per la BT Protocolli operativi per l'attività in laboratorio ed in campo nella sorveglianza della BT
Entomologia	Biologia ed ecologia dei <i>Culicoides</i> ( <i>C. imicola</i> , <i>C. obsoletus</i> e <i>C. pulicaris</i> ) Dimostrazione pratica sull'uso della trappola per <i>Culicoides</i> e criteri utilizzati nella scelta del sito di cattura Gestione dei campioni in laboratorio Identificazione e tassonomia dei <i>Culicoides</i> ( <i>C. imicola</i> , <i>C. obsoletus</i> e <i>C. pulicaris</i> ) Cambiamenti climatici ed ambientali: l'effetto del clima e del suolo sulla distribuzione ed abbondanza dei <i>Culicoides</i> Distribuzione geografica dei <i>Culicoides</i> e studio dell'abbondanza e della stagionalità
Virologia e sierologia	Esecuzione ed interpretazione del test di sieroneutralizzazione Isolamento del BTV su Cellule Vero e C6/36 Isolamento virale: preparazione dei campioni per il primo e secondo passaggio Isolamento virale: tessuto colture Test di immunofluorescenza
Sistemi informativi geografici e sistemi di posizionamento geografici	GIS e GPS: applicazione in campo veterinario di questi strumenti e la loro importanza GIS e GPS: descrizione e utilizzo GIS: definizione e fasi per lo sviluppo e l'applicazione GIS: installazione e uso di software per l'analisi dei dati geografici (ArcExplorer®, GeoDa® e ArcGis®) GIS: esercitazione per creare e gestire un database GPS: esercitazione in campo sull'uso di questo strumento
Stazione meteorologica automatica	Descrizione dell'AWS e dei suoi sensori (temperatura, umidità relativa, velocità e direzione del vento, umidità e temperatura del suolo) Installazione in campo dell'AWS Esercitazione pratica sull'uso dell'AWS Manutenzione dell'AWS e dei suoi sensori Utilizzo del software BoxCar® Pro. version 4.3 per la raccolta di dati climatici L'importanza dell'AWS per creare mappe predittive della distribuzione dei <i>Culicoides</i> in aree a rischio

BT bluetongue  
BTV bluetongue virus  
GIS geographic information system  
GPS geographic positioning system  
AWS automatic weather station

Le funzionalità sopra descritte sono disponibili sul sito web (Fig. 1) nelle seguenti sezioni:

#### **Progetto East-BTnet**

In questa sezione sono disponibili i documenti relativi a:

- la descrizione del progetto
- le schede standard per la raccolta di campioni entomologici e sierologici
- il modello del questionario di valutazione dei bisogni
- la relazione finale della valutazione dei bisogni
- il workshop di chiusura e valutazione del progetto.

#### **Legislazione**

In questa sezione sono disponibili per la consultazione le norme aggiornate della legislazione UE e gli standard OIE sulla BT (Fig. 1b).

#### **Documenti**

E' disponibile una descrizione della malattia per quanto riguarda la sua epidemiologia, sintomatologia, anatomia patologica, diagnosi e profilassi (Fig. 1c). Possono essere visualizzati un breve filmato ed una serie di fotografie dei sintomi e dei principali reperti anatomico-patologici riscontrabili. E' consultabile inoltre un elenco di riferimenti bibliografici divisi per anno (dal 1998 al 2004) e inerenti tutti gli aspetti della malattia, mentre una selezione di articoli in formato pdf possono essere salvati in locale.

#### **Materiale didattico**

Il materiale didattico utilizzato durante i corsi di formazione sui vari aspetti dell'epidemiologia e della sorveglianza della BT può essere scaricato in formato Power Point® (Fig. 1d). Una sintesi delle aree tematiche trattate durante i corsi è riportata in Tabella II.

#### **Mappe**

Allo scopo di fornire ai servizi veterinari dei Paesi coinvolti uno strumento utile per la gestione, l'analisi e la divulgazione di dati e informazioni sulla BT è stato sviluppato ed implementato un

network basato su connessioni internet e tecnologie GIS (Fig. 1e). Le componenti tecniche sono descritte in maggiore dettaglio in Savini *et al.* (53). Il sistema è centralizzato al fine di standardizzare le strategie della sorveglianza epidemiologica. Durante l'interrogazione delle mappe interattive è possibile visualizzare informazioni aggregate a livello di Paese, provincia o specifici punti se dotati di coordinate geografiche (esempio: siti di cattura). L'aggiornamento dei dati è effettuato online ed è visualizzabile in tempo reale in forma tabellare o in mappa.

Per visualizzare la distribuzione della malattia, i risultati della sorveglianza sierologica ed entomologica, sono stati realizzati tre diversi servizi di ArcIMS™ (Fig. 2):

- **Distribuzione della malattia:** questo servizio permette di avere una visione d'insieme della distribuzione geografica annuale per sierotipo in ogni Paese (dati di libero accesso) (Fig. 2a). L'OIE CC-IZSA&M è responsabile dell'aggiornamento di questo database la cui fonte è il bollettino OIE weekly *Disease Information*.
- **Risultati della sorveglianza sierologica:** gli utenti autorizzati possono accedere alla mappa dinamica che visualizza i risultati dei programmi di sorveglianza sierologica (Fig. 2b). L'utente può avere accesso a dati alfanumerici e geografici che forniscono informazioni di dettaglio sul numero di animali positivi e testati, la specie animale e il tipo di test utilizzato per la diagnosi. L'interrogazione del database può essere fatta per anno, mese o unità amministrativa.
- **Risultati della sorveglianza entomologica:** gli utenti autorizzati possono accedere alla mappa dinamica che visualizza i risultati dei programmi di sorveglianza entomologica (Fig. 2c). L'utente interrogando il sistema può accedere ai dati relativi la distribuzione geografica

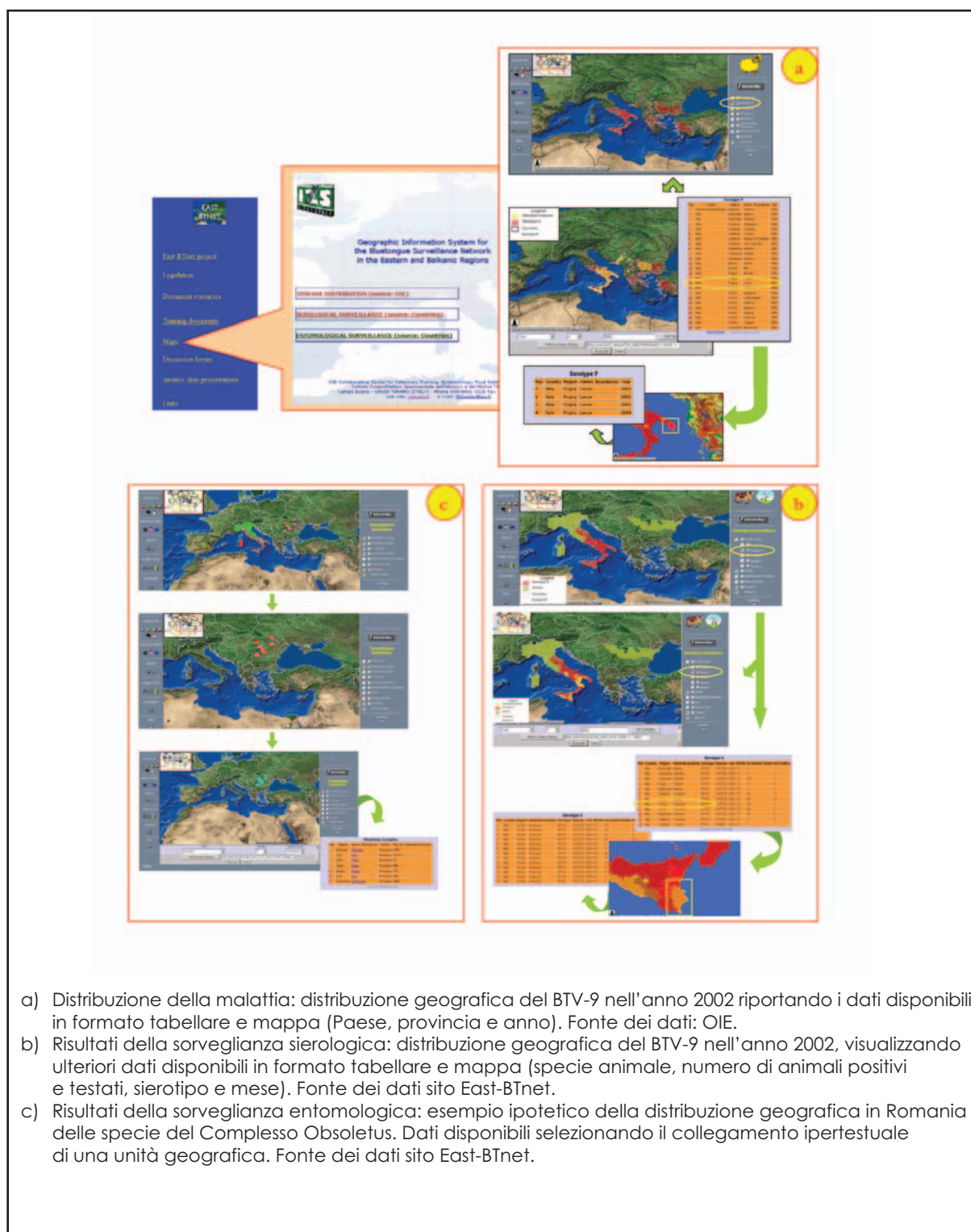


Figura 2  
Sezione mappe del sito web East-BTnet

(presenza/assenza) dei *Culicoides*, il loro numero massimo registrato e il dettaglio delle singole catture: numero totale di *Culicoides* spp. (*C. imicola*, Complesso dell'Obsoletus e del *Pulicaris*) catturati nel sito di cattura di interesse e relativa data di cattura. Altre informazioni disponibili sono la temperatura massima e minima della notte in cui è stata effettuata la cattura e le coordinate geografiche del sito.

### Forum

La sezione Forum permette agli utenti di condividere idee, dubbi e problematiche su tutti gli aspetti della malattia (Fig. 1f). L'utente può leggere tutti i messaggi raggruppati per tema e può partecipare al forum su argomenti quali: legislazione, epidemiologia, biologia del vettore, aspetti clinici e diagnostici della BT.

### Archivio di presentazioni in Power Point

Gli utenti autorizzati possono effettuare il download e l'upload di presentazioni in Power Point® che desiderano condividere con i colleghi, su qualunque aspetto della BT (Fig. 1g).

### Links

In questa sezione sono disponibili collegamenti ipertestuali a pagine web di altri siti dove è possibile reperire ulteriori informazioni relative a dati satellitari, GIS, riviste scientifiche on-line e altre informazioni utili (Fig. 1h).

## Discussione

L'idea di creare una rete di sorveglianza basata su strumenti web che permetta di monitorare gli andamenti della distribuzione del virus e del vettore (East-BTnet), è nuova ed originale. Questo sistema permette la rapida raccolta, analisi, interpretazione e divulgazione di grandi quantità di dati generati dai programmi di monitoraggio di Paesi anche con caratteristiche ambientali differenti. A questo si aggiunge il vantaggio di generare mappe dinamiche, aggiornate in tempo

reale, in risposta al cambiamento della distribuzione geografica del virus (7). Questo approccio, malgrado la sua estesa applicazione nel campo della sanità pubblica (3, 5, 10, 23, 31, 51), non è ancora molto usato in campo veterinario (7, 9, 12, 18, 22, 28). Nel caso della realizzazione di una rete di sorveglianza a livello regionale ed in particolar modo quando si affronta una malattia trasmessa da vettori come la BT, quindi con un elevato carattere transfrontaliero, è essenziale adottare un approccio di tipo olistico (55) che consideri i diversi metodi di allevamento e le differenti pratiche zootecniche adottate anche in Paesi confinanti. Prima dell'East-BTnet, non esistevano programmi di sorveglianza omogenei o armonizzati fra i vari Paesi, motivo per cui i dati non potevano essere comparati e fornivano una visione incompleta della situazione epidemiologica della BT. Si è ritenuto necessario, quindi, sviluppare un sistema che adottasse un approccio unico e comune per il controllo della circolazione del virus della BT. A tale fine gli strumenti web utilizzati nella realizzazione dell'East-BTnet non forniscono, ai servizi veterinari dei Paesi partecipanti, solo uno strumento utile nella gestione, analisi e condivisione dei dati epidemiologici. Questi applicativi, infatti, favoriscono l'armonizzazione delle strategie di sorveglianza attraverso la standardizzazione dei dati raccolti nei sistemi informativi.

La realizzazione del sistema ha richiesto una fase preliminare molto delicata dove, con l'utilizzo di un questionario e di visite *in loco* nei Paesi pilota, sono stati individuati i bisogni in termini di conoscenza, attrezzature di laboratorio e strumenti informatici. Questa fase ha permesso di mettere in luce i punti deboli dei sistemi di sorveglianza esistenti e di operare un miglioramento e un consolidamento considerando le esigenze di ogni singolo Paese. La sezione del questionario sulla sorveglianza della malattia ha evidenziato l'importanza e i timori causati dalla BT tanto da

indurre alcuni Paesi ad implementare un programma di sorveglianza clinica, pur senza avere mai notificato la presenza della malattia (es. Romania). Allo stesso modo è emerso il bisogno di intensificare le attività di sorveglianza entomologica in quasi tutti i Paesi e di conseguenza, sono stati messi in atto o migliorati i piani di sorveglianza nazionali facilitando lo studio dell'epidemiologia della BT in queste aree e fornendo ulteriori conoscenze sulla distribuzione e sull'abbondanza delle varie specie di vettori coinvolti. Inoltre, l'utilizzo di metodologie standard basate sulla raccolta di una serie minima di dati, aiuta a fornire informazioni su:

- rilevazione immediata della circolazione del BTV mediante il controllo sierologico sistematico di un numero elevato di capi
- identificazione dei sierotipi circolanti
- valutazione dello stato sanitario della popolazione di animali recettivi alla malattia
- identificazione di aree stagionalmente libere dalla circolazione virale.

I corsi di formazione tenuti durante i workshops hanno contribuito a creare una valida rete di esperti per un continuo scambio di idee, dubbi e problematiche sui vari aspetti della BT. Il sito internet East-BTnet assicura una panoramica della più recente situazione epidemiologica della BT integrando i dati della sorveglianza entomologica e sierologica ad altre fonti di informazione. Rappresenta, inoltre, uno strumento molto efficace nella raccolta e ricerca di informazioni che altrimenti non sarebbero disponibili e potrebbe essere utilizzato come base per la realizzazione di altri sistemi di sorveglianza nazionali. Altro vantaggio apportato è la condivisione delle esperienze maturate dai vari esperti e l'immediata disponibilità di soluzioni a problemi via internet, utilizzando anche strumenti e tecnologie GIS. In aggiunta, il lavoro effettuato è fondamentale per la realizzazione di preziose banche dati utilizzabili per effettuare

analisi del rischio sia per la BT sia per malattie che condividono simili caratteristiche epidemiologiche come la peste equina. Infine, apportando le opportune modifiche, rappresenta un valido prototipo da applicare ad altre malattie trasmesse da vettori come la West Nile e la Crimean-Congo haemorrhagic fever.

## Ringraziamenti

---

Si ringrazia il personale dell'Institute for the Protection and the Security of the Citizen, the European Commission Joint Research Centre (IPSC-JRC), Italia: James Bishop, Gianluca Fiore, Christophe Korn, Sergio Mainetti, Ugo Meloni, Silvia Parnisari, André Poucet, Espedito Ruotolo e Irene Solinas per la loro collaborazione e assistenza tecnica fornita nel corso delle attività. Dell'IZSA&M si ringrazia Annamaria Conte, Maria Goffredo, Carla Ippoliti, Mario Parisse, Giovanni Savini e Daniele Zippo per l'aiuto fornito sia nello sviluppo e nella realizzazione del progetto sia nei corsi di formazione. Un particolare ringraziamento va ai servizi veterinari dell'Albania, Bosnia-Erzegovina, Bulgaria, Cipro, Croazia, Macedonia, Kosovo, Malta, Serbia e Montenegro, Slovenia, Romania e Turchia per la loro entusiasta collaborazione.

## Finanziamenti

---

Questo studio è stato promosso dalla regione Abruzzo e finanziato dal Ministero degli Affari Esteri come previsto dalla legge 84/2001 che disciplina le forme di partecipazione italiana al processo di stabilizzazione, ricostruzione e sviluppo dei Paesi dell'area balcanica. Lo sviluppo del progetto è stato affidato al OIE CC-IZSA&M con la collaborazione dell'IPSC-JRC. Cipro, Kosovo, Malta, Slovenia e Turchia hanno partecipato con il supporto finanziario dell'IPSC-JRC.

## Bibliografia

1. Anon. 2001. Legge n. 84 del 21 marzo 2001. Disposizioni per la partecipazione italiana alla stabilizzazione, alla ricostruzione e allo sviluppo di Paesi dell'area Balcanica. *Gazz Uff Rep Ital*, **76**, 31 March.
2. Barratt-Boyes S.M. & MacLachlan N.J. 1995. Pathogenesis of bluetongue virus infection of cattle. *J Am Vet Med Assoc*, **206**, 1322-1329.
3. Bédard Y., Gosselin P., Rivest S., Proulx M.J., Nadeau M., Lebel G. & Gagnon M.F. 2003. Integrating GIS components with knowledge discovery technology for environmental health decision support. *Int J Med Informatics*, **70** (1), 79-94.
4. Bonneau K.R., DeMaula C.D., Mullens B.A. & MacLachlan N.J. 2002. Duration of viraemia infectious to *Culicoides sonorensis* in bluetongue virus-infected cattle and sheep. *Vet Microbiol*, **88** (2), 115-125.
5. Boulos M.N.K. 2004. Towards evidence-based, GIS-driven national spatial health information infrastructure and surveillance services in the United Kingdom. *Int J Health Geogr*, **3** (1) ([www.ij-healthgeographics.com/content/3/1/1](http://www.ij-healthgeographics.com/content/3/1/1) accessed on 5 April 2006).
6. Calistri P., Giovannini A., Conte A., Nannini D., Santucci U., Patta C., Rolesu S. & Caporale V. 2004. Bluetongue in Italy: Part I. In *Bluetongue, Part I* (N.J. MacLachlan & J.E. Pearson, eds). Proc. Third International Symposium, Taormina, 26-29 October 2003. *Vet Ital*, **40** (3), 243-251.
7. Cameron A.R. 2004. Data management and analysis systems for bluetongue virus zoning in Australia. In *Bluetongue, Part I* (N.J. MacLachlan & J.E. Pearson, eds). Proc. Third International Symposium, Taormina, 26-29 October 2003. *Vet Ital*, **40** (3), 365-368.
8. Caracappa S., Torina A., Guercio A., Vitale F., Calabro A., Purpari G., Ferrantelli V., Vitale M. & Mellor P.S. 2003. Identification of a novel bluetongue virus vector species of *Culicoides* in Sicily. *Vet Rec*, **153** (3), 71-74.
9. Conte A., Colangeli P., Ippoliti C., Paladini C., Ambrosini M., Savini L., Dall'Acqua F. & Calistri P. 2005. The use of a Web-based interactive geographical information system for the surveillance of bluetongue in Italy. *Rev Sci Tech*, **24** (3), 857-868.
10. Croner C.M. 2003. Public health, GIS and the Internet. *Ann Rev Publ Health*, **24**, 57-82.
11. Du Toit R.M. 1944. The transmission of bluetongue and horse sickness by *Culicoides*. *Onderstepoort J Vet Sci Anim Ind*, **19**, 7-16.
12. Egbert M. 2004. Web-based disease tracking: a West Nile virus example ([gis.esri.com/library/userconf/proc04/docs/pap1131.pdf](http://gis.esri.com/library/userconf/proc04/docs/pap1131.pdf) accessed on 5 April 2006).
13. European Council 2000. Directive 2000/75/EC of 20 November 2000 laying down specific provisions for the control and eradication of bluetongue. *Off J*, **L 327**, 74-83.
14. Food and Agriculture Organization (FAO) 2004. Global livestock production and health atlas, all livestock, density, land area. FAO, Rome ([www.fao.org/ag/aga/glipha/index.jsp](http://www.fao.org/ag/aga/glipha/index.jsp) accessed on 5 April 2006).
15. Food and Agriculture Organization (FAO) Agriculture Department, Animal Production and Health Division (AGA) 2006. Disease cards: bluetongue. FAO, Rome ([www.fao.org/ag/againfo/subjects/en/health/diseases-cards/bluetongue.html](http://www.fao.org/ag/againfo/subjects/en/health/diseases-cards/bluetongue.html) accessed on 13 April 2006).
16. Gambles R.M. 1949. Bluetongue of sheep in Cyprus. *J Comp Pathol*, **59**, 176-190.
17. Gibbs E.P.J. & Greiner E.C. 1989. Bluetongue and epizootic hemorrhagic disease. In *The arboviruses: epidemiology and ecology*, Vol. 2. (T.P. Monath, ed.). CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, 30-70.
18. Giovannini A., Paladini C., Calistri P., Conte A., Colangeli P., Santucci U., Nannini D. & Caporale V. 2004. Surveillance system of bluetongue in Italy. In *Bluetongue, Part I* (N.J. MacLachlan & J.E. Pearson,

- eds). Proc. Third International Symposium, Taormina, 26-29 October 2003. *Vet Ital*, **40** (3), 369-384.
19. Goffredo M., Satta G., Torina A., Federico G., Scaramozzino M., Cafiero M.A., Lelli R. & Meiswinkel R. 2001. The 2000 bluetongue virus (BTV) outbreak in Italy: distribution and abundance of the principal vector *Culicoides imicola* Kieffer. In Proc. 10th International Symposium of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians (AAVLD) and OIE Seminar on biotechnology, Salsomaggiore, Parma, 4-7 July. AAVLD, Ames, 308-309.
  20. Goffredo M. & Meiswinkel R. 2004. Entomological surveillance of bluetongue in Italy: methods of capture, catch analysis and identification of *Culicoides* biting midges. In *Bluetongue, Part I* (N.J. MacLachlan & J.E. Pearson, eds). Proc. Third International Symposium, Taormina, 26-29 October 2003. *Vet Ital*, **40** (3), 260-265.
  21. Gomulski L.M., Meiswinkel R., Delécolle J-C., Goffredo M. & Gasperi G. 2005. Phylogenetic relationships of the subgenus *Avaritia* Fox, 1955 including *Culicoides obsoletus* (Diptera, Ceratopogonidae) in Italy based on internal transcribed spacer 2 ribosomal DNA sequences. *Systematic Entomol*, **30** (4), 619-631.
  22. Gosselin P., Lebel G., Rivest S. & Douville-Fradet M. 2005. The integrated system for public health monitoring of West Nile virus (ISPHM-WNV): a real-time GIS for surveillance and decision-making. *Int J Health Geogr*, **4**, 21 (<http://www.ij-healthgeographics.com/content/4/1/21> accessed on 13 April 2006).
  23. Hanchette C.L., Gibbs D.A., Gilliam A., Fogarty K.J. & Bruhn M. 2005. A national, geographic database of CDC-funded HIV prevention services: development challenges and potential applications. *Int J Health Geogr*, **4**, 28 ([www.ij-healthgeographiHealths.com/content/4/1/28](http://www.ij-healthgeographiHealths.com/content/4/1/28) accessed on 13 April 2006).
  24. Labrovic A., Poljak Z., Šeparović S., Jukic B., Lukman D., Listeš E. & Bosnić S. 2004. Spatial distribution of bluetongue in cattle in southern Croatia in the last quarter of 2002. In *Bluetongue, Part I* (N.J. MacLachlan & J.E. Pearson, eds). Proc. Third International Symposium, Taormina, 26-29 October 2003. *Vet Ital*, **40** (3), 217-220.
  25. Listeš E., Bosnić S., Benić M., Lojkić M., Čać Ž., Cvetnić Ž., Madić J., Šeparović S., Labrovic A., Savini G. & Goffredo M. 2004. Serological evidence of bluetongue and a preliminary entomology study in southern Croatia. In *Bluetongue, Part I* (N.J. MacLachlan & J.E. Pearson, eds). Proc. Third International Symposium, Taormina, 26-29 October 2003. *Vet Ital*, **40** (3), 221-225.
  26. MacLachlan N.J. 1994. The pathogenesis and immunology of bluetongue virus infection of ruminants. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, **17**, 197-206.
  27. Manso-Ribeiro J., Rosa-Azevedo J.A., Noronha F.O., Braco-Forte M.C., Grave-Pereira C. & Vasco-Fernandez M. 1957. Fièvre catarrhale du mouton (bluetongue). *Bull Off Int Epiz*, **48**, 350-367.
  28. Maroney S.A. & Freier E.J. 2004. Controlling livestock diseases with the help of an interactive map server ([gis.esri.com/library/userconf/proc01/professional/abstracts/a602.html](http://gis.esri.com/library/userconf/proc01/professional/abstracts/a602.html) accessed on 5 April 2006).
  29. Meiswinkel R., Gomulski L.M., Delécolle J-C., Goffredo M. & Gasperi G. 2004. The taxonomy of *Culicoides* vector complexes – unfinished business. In *Bluetongue, Part I* (N.J. MacLachlan & J.E. Pearson, eds). Proc. Third International Symposium, Taormina, 26-29 October 2003. *Vet Ital*, **40** (3), 151-159.
  30. Mellor P.S. & Wittmann E.J. 2002. Bluetongue virus in the Mediterranean Basin 1998-2001. *Vet J*, **164** (1), 20-37.
  31. Moreno-Sanchez R., Hayden M., Janes C. & Anderson G. 2005. A web-based multimedia spatial information system to document *Aedes aegypti* breeding sites and dengue fever risk along the US-Mexico border. *Health Place* (doi:10.1016/

- j.healthplace.2005.10.001), Article in Press, Corrected Proof.
32. Office International des Épidémiologistes 1998. Bluetongue in Greece. *Dis Info*, 27 November, **11** (47), 166.
  33. Office International des Épidémiologistes 1999. Bluetongue in Bulgaria. *Dis Info*, 9 July, **12** (26), 94.
  34. Office International des Épidémiologistes 2000. Bluetongue in Algeria. *Dis Info*, 28 July, **13** (28), 109.
  35. Office International des Épidémiologistes 2000. Bluetongue in France: in the island of Corsica. *Dis Info*, 3 November, **13** (43), 195.
  36. Office International des Épidémiologistes 2000. Bluetongue in Italy. *Dis Info*, 1 September, **13** (34), 150.
  37. Office International des Épidémiologistes 2000. Bluetongue in Spain: in the Balearic Islands. *Dis Info*, 13 October, **13** (40), 181.
  38. Office International des Épidémiologistes 2000. Bluetongue in Tunisia. *Dis Info*, 7 January, **13** (1), 1.
  39. Office International des Épidémiologistes 2001. Bluetongue in Croatia. *Dis Info*, 21 December, **14** (51), 291.
  40. Office International des Épidémiologistes 2001. Bluetongue in Former Yugoslav Republic of Macedonia. *Dis Info*, 12 October, **14**(41), 234.
  41. Office International des Épidémiologistes 2001. Bluetongue in Kosovo (FRY), territory under United Nations interim administration. *Dis Info*, 12 October, **14** (41), 242.
  42. Office International des Épidémiologistes 2001. Bluetongue in Yugoslavia. *Dis Info*, 2 November, **14** (44), 252.
  43. Office International des Épidémiologistes 2002. Bluetongue in Bosnia and Herzegovina. *Dis Info*, 6 September, **15** (36), 171.
  44. Office International des Épidémiologistes 2003. Bluetongue in Albania. *Dis Info*, 14 February, **16** (7), 47.
  45. Office International des Épidémiologistes 2004. Bluetongue in Cyprus. *Dis Info*, 19 March, **17** (12), 83-84.
  46. Office International des Épidémiologistes 2004. Bluetongue in Morocco. *Dis Info*, 24 September, **17** (39), 273.
  47. Office International des Épidémiologistes 2004. Bluetongue in Portugal. *Dis Info*, 26 November, **17** (48), 353.
  48. Office International des Épidémiologistes 2004. Bluetongue in Spain: serological findings in the peninsular territory, in sentinel animals. *Dis Info*, 15 October, **17** (42), 302.
  49. Office International des Épidémiologistes 1999. Bluetongue in Turkey. *Dis Info*, 6 August, **12** (30), 107.
  50. Purse B.V., Mellor P., Rogers D.J., Samuel A.R., Mertens P.P.C. & Baylis M. 2005. Climate change and the recent emergence of bluetongue in Europe. *Nat Rev Microbiol*, **3**, 171-180.
  51. Rolfhamre P., Grabowska K. & Ekdahl K. 2004. Implementing a public web based GIS service for feedback of surveillance data on communicable diseases in Sweden. *BMC Infect Dis*, **4**, 17 ([www.biomedcentral.com/content/pdf/1471-2334-4-17.pdf](http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1471-2334-4-17.pdf) accessed on 13 April 2006).
  52. Savini G., Goffredo M., Monaco F., Di Gennaro A., Cafiero M.A., Baldi L., De Santis P., Meiswinkel R. & Caporale V. 2005. Bluetongue virus isolations from midges belonging to the *Obsoletus* complex (*Culicoides*, Diptera: Ceratopogonidae) in Italy. *Vet Rec*, **157** (5), 133-139.
  53. Savini L., Ippoliti C., Conte A., Parisse M., Dall'Acqua F. & Calistri P. 2006. Development of a web-based geographic information system for the epidemiological surveillance of bluetongue in the Balkan and Eastern Mediterranean countries. *Vet Ital*, **42** (3). Accettato per la pubblicazione.
  54. Shimshony A. 2004. Bluetongue in Israel – a brief historical overview. In *Bluetongue, Part I* (N.J. MacLachlan & J.E. Pearson, eds). Proc. Third International Symposium, Taormina, 26-29 October 2003. *Vet Ital*, **40** (3), 116-118.
  55. Tabachnick W.J. 2004. *Culicoides* and the global epidemiology of bluetongue virus infection. In *Bluetongue, Part I* (N.J. MacLachlan & J.E. Pearson, eds). Proc. Third International Symposium, Taormina, 26-29 October 2003. *Vet Ital*, **40** (3), 145-150.
  56. Verwoerd D.W. & Erasmus B.J. 1994. Bluetongue. In *Infectious diseases of livestock with special reference to southern Africa* (J.A.W. Coetzer, G.R. Thomson & R.C. Tustin, eds). Oxford University Press, Cape Town, 443-459.