

Primo report sull'attività entomologica condotta nell'ambito del piano nazionale per la sorveglianza della *West Nile disease* in Italia

Luciano Toma^(1,2), Micaela Cipriani⁽¹⁾, Maria Goffredo⁽¹⁾, Roberto Romi⁽²⁾ & Rossella Lelli⁽¹⁾

Riassunto

Il virus *West Nile* (WNV) è neuropatogeno per uccelli, cavalli e uomo e viene mantenuto in circolo tra uccelli e zanzare, in particolare del genere *Culex*; i cavalli e gli esseri umani sono considerati ospiti accidentali. Un focolaio circoscritto di encefalomielite equina da WNV verificatosi in Italia nel 1998, insieme ad una recente epidemia verificatasi in Francia nelle vicinanze del confine italiano, hanno indotto il Governo Italiano ad intraprendere un piano di sorveglianza, con lo scopo di valutare il rischio di una nuova introduzione del virus. Tale piano ha previsto la sorveglianza entomologica realizzata in 15 aree di studio considerate "a rischio" di introduzione del WNV nel nostro paese. L'inchiesta entomologica condotta in Italia dal 2003 al 2007 ha visto come risultato la cattura di 28.798 zanzare in totale, delle quali 14.765 adulte e 14.033 larve, appartenenti a 22 specie. In conformità con la letteratura esistente otto specie identificate sono state trovate naturalmente infette con WNV o infettate in laboratorio con successo, in alcuni paesi di Europa e Stati Uniti d'America: *Aedes albopictus* (Skuse, 1897) (= *Stegomyia albopicta*), *Aedes vexans* (Meigen, 1830), *Anopheles maculipennis* Meigen, 1818, *Coquillettidia richiardii* (Ficalbi, 1889), *Culex modestus* Ficalbi, 1889, *Culex pipiens* Linnaeus, 1758, *Culex theileri*

Theobald, 1903 e *Ochlerotatus caspius* (Pallas, 1771) (= *Aedes caspius*).

Keywords

Culex pipiens, Italia, Monitoring, Mosquito, West Nile, Sorveglianza, Virus.

Introduzione

Il virus *West Nile* (WNV) è un arbovirus appartenente alla famiglia *Flaviviridae*, membro del complesso dell'encefalite giapponese, i cui vettori responsabili della trasmissione sono rappresentati da diverse specie di zanzare. Il WNV è neuropatogeno per uccelli, cavalli e uomo (59) e viene mantenuto nel ciclo naturale da zanzare soprattutto appartenenti al genere *Culex* (3). Il virus WN è ampiamente distribuito in Africa, Medio Oriente, Eurasia e fu introdotto in America del Nord più di recente (23, 28, 44). Le infezioni animali e quelle umane non sono state documentate nell'emisfero ovest fino al 1999 quando un'epidemia si verificò nell'area metropolitana di New York City. Nel 2003, l'attività del WNV, riportata in 46 stati aveva già causato la malattia in più di 9.800 persone. Negli Stati Uniti dalla prima individuazione avvenuta nel 1999 ad oggi, il WNV si è diffuso in 46 stati continentali (65), causando in totale 27.598 casi umani tra i quali 1.086 con esito letale (7). Il

(1) Centro di Referenza Nazionale per le Malattie Escotiche (CESME), Indagine entomologica per la sorveglianza della WND in Italia, Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise 'G. Caporale', Via Campo Boario, 64100 Teramo, Italia
luciano.toma@iss.it

(2) Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate (MIPI), Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena 299, 00161 Roma, Italia

virus WN si è diffuso anche in Canada nel 2001 (20), ha raggiunto i paesi dei Caraibi, dell'America centrale nel 2003 (8, 43) ed ha anche circolato in molti paesi dell'Europa continentale e nel bacino del Mediterraneo. Alcune epidemie hanno causato encefaliti umane in Algeria nel 1994 (39), in Romania tra il 1996 ed il 2000 (62), nella Repubblica Ceca nel 1997 (39), in Russia nel 1999 (26) e in Israele nel 2000 (67). Alcune forme epizootiche della malattia si sono manifestate in Marocco nel 1996 (39), in Italia nel 1998 (2) e in Francia nel 2000 (39), dove sono stati interessati gli equini. Una delle peculiarità di questo flavivirus è quella di poter essere trasmesso da differenti generi e numerose specie di zanzare. Ad oggi, la lista delle zanzare nelle quali il WNV è stato isolato comprende almeno 75 specie, anche se ne sono state trovate altre positive negli Stati Uniti (mediante diversi test diagnostici quali isolamento virale del WNV, identificazione con PCR dell'RNA di WNV o identificazione dell'antigene per WNV) (5, 6). Il WNV colpisce principalmente gli uccelli in un ciclo enzootico (27), meno frequentemente si manifesta nei mammiferi, tra i quali equini e esseri umani sono considerati ospiti a fondo cieco (13). *Culex pipiens* è generalmente considerata il vettore più competente per WNV in Europa e probabilmente la specie coinvolta nell'epidemia di Cerbaie-Fucecchio (2) e in Romania, dove ha agito sia come vettore enzootico che epizootico (55). Tuttavia per definire il possibile ruolo di *Cx. pipiens* nel mantenimento della trasmissione degli arbovirus è necessario comprendere gli aspetti biologici ed ecologici delle varie forme biologiche della specie. (45, 66).

Questo virus è stato anche individuato in altri artropodi ematofagi. Il WNV è stato scoperto nel ceratopogonide *Culicoides sonorensis* Wirth & Jones (Diptera: Ceratopogonidae) negli Stati Uniti (41) e in 10 specie di zecche (21) appartenenti a sei generi e in particolare *Argas*, *Ornithodoros* (Ixodida: Argasidae), *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Hyalomma*, *Rhipicephalus* (Ixodida: Ixodidae) (22, 37). Comunque il ruolo specifico di questi e di altri artropodi ematofagi nella trasmissione del WNV richiede ulteriori approfondimenti.

Mentre negli Stati Uniti la malattia è presente dal 1999, in Europa si sono verificati episodi sporadici più limitati, in seguito all'introduzione del virus tramite il passaggio di uccelli migratori dall'Africa con il conseguente coinvolgimento di popolazioni locali di zanzare (40).

Nel 1998 in Italia, un focolaio circoscritto di encefalomyelite equina da WNV ha coinvolto 14 cavalli da corsa in nove località situate in quattro province della Toscana. La diagnosi è stata effettuata dal Centro per le Malattie Esotiche (CESME) presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise 'G. Caporale' di Teramo usando il test di fissazione del complemento (CF). In seguito il virus WN è stato isolato e identificato con l'analisi molecolare presso l'Istituto Pasteur di Parigi nel dicembre 1998, processando i campioni provenienti da due dei cavalli italiani che presentavano i segni dell'encefalite (2). Questo evento, insieme al verificarsi di una epidemia da WNV in Francia nelle vicinanze del confine italiano (38) ed anche alla luce della estesa presenza di un altro potenziale vettore, *Ae. albopictus* (50, 54), hanno costituito i precedenti affinché il governo Italiano intraprendesse un piano di sorveglianza per stimare il rischio di una reintroduzione del virus. Dal 2002, il Ministero della Salute ha approvato un piano nazionale basato sulla sorveglianza sierologica ed entomologica (controllo periodico su polli sentinella ed equini nel primo caso e identificazione di specie di zanzare nel secondo), mediante la promulgazione di tre ordinanze ministeriali e dal novembre del 2007, di un decreto ministeriale (30, 31, 32, 33).

Il piano di sorveglianza è gestito dal CESME di Teramo e dalla Unità di Entomologia Medica e Controllo dei Vettori dell'Istituto Superiore di Sanità per le competenze in campo entomologico ed è coordinato sul territorio da una rete di Istituti Zooprofilattici Sperimentali in collaborazione con i Servizi Veterinari competenti per territorio.

Gli autori presentano i risultati della sorveglianza entomologica condotta in Italia negli ultimi cinque anni. I risultati sono messi a confronto con le informazioni reperibili in

letteratura e rappresentano una parte del sistema di sorveglianza tutt'ora in atto, mirato ad implementare la conoscenza sull'ecologia del virus WN in Italia.

Materiali e metodi

Aree di studio

La sorveglianza entomologica è stata condotta in 15 aree di studio considerate "a rischio" per la introduzione accidentale del WNV in Italia (Tabella I; Fig. 1); tali aree sono state selezionate sulla base delle caratteristiche naturali e antropiche considerate adatte alla circolazione virale, come la presenza di persone, fattorie con cavalli, maneggi, uccelli migratori e zanzare. Inoltre, la selezione delle aree di studio ha seguito i criteri standardizzati da *Important Bird Areas (IBA) European Programme* (16), in collaborazione con l'Istituto Nazionale della Fauna Selvatica (INFS, Ozzano Dell'Emilia, Bologna, Italy), secondo la seguente definizione: aree in grado di supportare regolarmente 20.000 o più oppure l'1% degli individui in una popolazione di specie o sottospecie di uccelli palustri (12). Le aree di studio sono state georeferenziate e incluse nella lista delle aree

umide italiane utilizzate per il censimento invernale degli uccelli. Il territorio italiano è stato suddiviso graficamente in una griglia di quadrati di 400 km² (20 km di lato) utilizzando un software *geographic information system (GIS)*; l'area "a rischio" corrisponde all'insieme dei quadrati compresi nel raggio di 20 km a partire dal centro dell'area di studio (15).

Procedure per le raccolte entomologiche

La raccolta delle zanzare adulte e delle larve è stata effettuata dal personale degli I.I. Z.Z. S.S. e delle A.A. S.S. L.L. coinvolti nel piano di sorveglianza nazionale per il WNV, secondo le procedure standard elaborate dall'I.S.S. In ciascuna area di studio sono state pianificate ed effettuate catture di zanzare con cadenza mensile da novembre a marzo, mentre da aprile ad ottobre le stesse sono state effettuate con cadenza quindicinale, per un totale di circa 16 indagini entomologiche per anno, per cinque anni (dal 2003 al 2007). Le zanzare adulte sono state raccolte sia con trappole luminose CDC sia mediante aspirazione nei ricoveri animali (soprattutto stalle e pollai) e gli esemplari raccolti sono stati conservati a secco. In totale sono state utilizzate

Tabella I
Elenco delle 15 aree di studio del piano di sorveglianza nazionale per *West Nile virus* in Italia

Regione	Località (Provincia)	Identificativo della località
Abruzzo	Foce del fiume Vomano (Teramo)	A
Basilicata	Lago di S. Giuliano (Matera)	B
Calabria	Foce del fiume Neto (Crotona)	C
Campania	Serre Persano (Salerno)	D
Emilia Romagna	Valli di Comacchio – Oasi di Bando (Ferrara)	E
Friuli Venezia-Giulia	Laguna di Grado e Marano (Gorizia)	F
Lazio	Lago di Sabaudia (Latina)	G
Marche	Sentina (Ancona)	H
Molise	Foce del fiume Biferno (Campobasso)	I
Puglia	Manfredonia (Foggia)	L
Sardegna	Stagno di S'Ena Arrubia (Oristano)	M
Sicilia	Stagni costieri di Vendicari (Siracusa)	N
Toscana*	Padule di Fucecchio (Pistoia)*	*
Umbria	Lago Trasimeno (Perugia)	O
Veneto	Valle Averte (Venezia)	P

* La sorveglianza entomologica nel Padule di Fucecchio è stata condotta nell'ambito di un programma regionale di sorveglianza del *West Nile virus* finanziato dalla Regione Toscana (51)



Figura 1
Localizzazione delle aree di studio (punti in giallo) in Italia

28 trappole, due per ogni area di studio, posizionate in luoghi quanto più possibile ombreggiati e riparati da pioggia e vento, a circa 1,5 m dal suolo e tenute in funzione dall'imbrunire fino al primo mattino. Inoltre in ogni area di studio una trappola è stata installata vicino ad un ricovero animale e l'altra nei pressi del pollaio dove erano collocati i polli "sentinella", appositamente mantenuti per la sorveglianza sierologica. Il termine "sentinella" si riferisce ai casi in cui un animale (più spesso una gallina) viene allevata in una situazione controllata (per esempio un pollaio) ed il suo sangue viene periodicamente

prelevato (di solito ogni una o due settimane) e saggiato per la presenza di WNV; il test positivo costituisce una indicazione del fatto che il virus è in circolazione nell'area considerata (7). Ulteriori catture sono state effettuate per aspirazione, catturando in maniera esaustiva le zanzare a riposo all'interno di stalle e pollai.

Le catture di larve sono state condotte quando possibile, negli stessi siti per ciascuna area di studio al fine di approfondire la conoscenza sulla composizione di specie e anche per rilevare la presenza eventuale di specie che

risultano meno comuni o assenti nelle catture delle zanzare adulte. I potenziali focolai larvali sia artificiali che naturali, situati in prossimità delle trappole luminose, sono stati visitati ed ispezionati ogni due settimane e le larve raccolte sono state conservate in etanolo al 70%. Le larve e le zanzare adulte sono state inviate al C.E.S.M.E. e all'I.S.S., per l'identificazione. Gli esemplari, sia larve che adulti, sono stati identificati morfologicamente secondo le chiavi pubblicate da Romi *et al.* (50) e secondo le chiavi di identificazione per le zanzare italiane utilizzate presso l'I.S.S. Soltanto le larve di quarto stadio sono state prese in considerazione per l'identificazione specifica. A tutt'oggi si segue tale procedura per l'effettuazione delle catture entomologiche.

Risultati

Le indagini entomologiche condotte in Italia dal 2003 al 2007 hanno consentito di catturare complessivamente 28.798 zanzare, delle quali 4.765 adulte e 14.033 larve. Tra gli esemplari adulti, per 13.060 è stata possibile l'identificazione specifica mentre per 1.705, per problemi di conservazione è stata possibile soltanto l'identificazione di genere. Per quanto riguarda gli esemplari allo stadio larvale, 14.001 sono risultati adatti per l'identificazione di specie, mentre 32 sono state identificate soltanto fino al livello di genere. In totale è stato possibile riconoscere 22 specie di zanzare, delle quali 4 appartenenti alla sottofamiglia Anophelinae (1 solo genere) e 18 appartenenti alla sottofamiglia Culicinae (6 generi). Una lista delle specie raccolte è riportata in Tabella II, mentre nelle Figure 2 e 3 viene mostrata l'abbondanza relativa delle specie di cui sono stati identificati più di 20 esemplari. Tre specie rappresentano l'84,06% dell'intero campione delle zanzare adulte e precisamente *Ochlerotatus caspius* (36,37%, $n=5,370$), *Culex pipiens* (36,9%, $n=5,449$) e *Anopheles maculipennis* (10,78%, $n=1,592$). Tra le larve raccolte (Tabella II), rappresentando l'89,3% dell'intero campione ($n=12,525$), *Cx. pipiens* è risultata essere la specie più abbondante.

Discussione

Considerando le abitudini alimentari delle specie raccolte, quattro di esse, *Anopheles plumbeus* Stephens, 1828, *Culiseta annulata* (Schrank, 1776), *Culiseta litorea* (Shute, 1928) e *Ochlerotatus detritus* (Haliday, 1833) (= *Aedes detritus*) (47), presentano l'attitudine ad effettuare il pasto di sangue su uccelli e uomo e potrebbero essere considerate come potenziali vettori ponte (Tabella III); sei specie, *Anopheles algeriensis* Theobald, 1903, *Anopheles claviger* (Meigen, 1804), *Ochlerotatus rusticus* (Rossi, 1790) (= *Aedes rusticus*) (47), *Ochlerotatus dorsalis* (Meigen, 1830) (= *Aedes dorsalis*) (47), *Ochlerotatus geniculatus* (Olivier, 1791) (= *Aedes geniculatus*) (47) e *Ochlerotatus zammitii* (Olivier, 1791) (= *Aedes zammitii*) (47) sono considerate antropofile ma non ornitofile (50) e quindi la loro presenza potrebbe rappresentare soltanto un basso rischio di trasmissione del WNV per l'uomo. Secondo quanto disponibile in letteratura, otto specie tra le rimanenti considerate, sono state trovate naturalmente infette con WNV o infettate con successo in laboratorio in alcune parti d'Europa e negli USA e precisamente *Ae. albopictus*, *Ae. vexans*, *An. maculipennis*, *Cq. richiardii*, *Cx. modestus*, *Cx. pipiens*, *Cx. theileri* e *Oc. caspius* (4, 14, 21, 24, 25). Di seguito viene riportata una breve descrizione delle caratteristiche biologiche ed ecologiche delle specie che potrebbero giocare ruoli differenti nella epidemiologia della WND.

Ae. albopictus, comunemente chiamata 'zanzara tigre', originaria del sud est dell'Asia, si è recentemente radicata nell'Europa occidentale. La specie è stata rinvenuta per la prima volta in Italia nel 1990 (53) e da allora si è diffusa accidentalmente nel Paese soprattutto grazie al trasporto dei copertoni d'auto usati che possono ospitarne le uova (10, 11, 34, 49). Recentemente questa zanzara sta mostrando una considerevole capacità di adattamento alle condizioni climatiche locali delle aree in cui si è diffusa. Infatti nelle femmine di alcune popolazioni dell'Italia centro-meridionale l'attività trofica si protrae durante l'intera stagione invernale, senza interruzione (61). Le femmine di *Ae. albopictus* hanno mostrato

competenza per più di 20 arbovirus, compresi WN e febbre gialla (YF) (35). In più, oltre ad essere un insetto ad essere un insetto particolarmente fastidioso, la capacità di adattamento ed il comportamento di *Ae. albopictus* ne fanno anche un potenziale vettore ponte di WNV. Inoltre questo virus è stato occasionalmente isolato dalla specie negli

USA ma non altrove (29) e la zanzara ha mostrato competenza vettoriale in prove di laboratorio (63).

Ae. vexans è una specie ampiamente diffusa nella Regione Palearctica fino al Kazakistan (17) e nelle regioni Afrotropicale e Nearctica (42). La specie punge aggressivamente l'uomo.

Tabella II

Elenco delle specie di zanzare raccolte nelle 14 aree di studio nell'ambito del programma di sorveglianza per *West Nile virus*, dal 2003 al 2007 (tra parentesi sono indicate le frequenze relative delle specie rispetto al totale degli esemplari)

Genere e specie	Località*	N. ♀♀	N. ♂♂	N. totale di adulti (%)	N. totale di larve (%)
<i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i> (Skuse, 1897)	A, F, G	16	–	16 (0,11)	32 (0,2)
<i>Aedes (Aedimorphus) vexans</i> (Meigen, 1830)	G	5	–	5 (0,03)	–
<i>Anopheles (Anopheles) algeriensis</i> Theobald, 1903	M	1	–	1 (0,01)	–
<i>Anopheles (Anopheles) claviger</i> (Meigen, 1804)	C, F, L	65	–	65 (0,44)	2 (0,00)
<i>Anopheles (Anopheles) maculipennis</i> Meigen, 1830	A, D, E, F, H, O, P	1.489	103	1.592 (15,1)	139 (0,99)
<i>Anopheles (Anopheles) plumbeus</i> Stephens, 1828	F	171	–	171 (1,16)	–
<i>Coquillettidia (Coquillettidia) richiardii</i> (Ficalbi, 1889)	G	42	3	45 (0,30)	–
<i>Culex (Neoculex) impudicus</i> (Ficalbi, 1890)	C, F	1	–	1 (0,01)	65 (0,5)
<i>Culex (Culex) pipiens</i> Linnaeus, 1758	A, B, C, D, E, F, G, H, I, L, M, N, O, P	4.955	494	5.449 (36,9)	12.525 (89,3)
<i>Culex (Maillotia) hortensis</i> Ficalbi, 1889	D, E, O	8	1	9 (0,06)	208 (1,5)
<i>Culex (Barraudius) modestus</i> Ficalbi, 1889	O	–	–	–	1 (0,00)
<i>Culex sp.</i>	A, D, E, F, I, L	586	9	595 (1,32)	6 (0,04)
<i>Culex (Culex) theileri</i> Theobald, 1903	G, H, L, M	9	4	13 (0,09)	15 (0,11)
<i>Culiseta (Culiseta) annulata</i> (Schrank, 1776)	D, F, G, L, M, P	81	7	88 (0,66)	86 (0,61)
<i>Culiseta (Culicella) litorea</i> (Shute, 1928)	G	–	–	–	6 (0,04)
<i>Culiseta (Allotheobaldia) longiareolata</i> (Macquart, 1838)	A, C, D, I, L, M, O	21	19	40 (0,27)	249 (1,77)
<i>Culiseta sp.</i>	D	4	1	5 (0,03)	2 (0,01)
<i>Ochlerotatus (Ochlerotatus) caspius</i> (Pallas, 1771)	A, C, E, F, G, H, L, M, N, P	5.343	27	5.370 (36,37)	208 (1,48)
<i>Ochlerotatus (Ochlerotatus) detritus</i> (Haliday, 1833)	F, G, L, M	155	2	157 (1,6)	214 (1,62)
<i>Ochlerotatus (Ochlerotatus) rusticus</i> (Rossi, 1790)	F, G, O	25	–	25 (0,17)	19 (0,14)
<i>Ochlerotatus (Ochlerotatus) dorsalis</i> (Meigen, 1830)	G, H	1	2	3 (0,02)	–
<i>Ochlerotatus (Finlaya) geniculatus</i> (Olivier, 1791)	G, M	1	2	3 (0,02)	–
<i>Ochlerotatus (Finlaya) zammitii</i> (Olivier, 1791)	N	–	–	–	219 (1,56)
<i>Ochlerotatus sp.</i>	E, F, G, L, M, P	1.101	4	1.105 (7,48)	24 (0,17)
<i>Uranotaenia (Uranotaenia) unguiculata</i> (Edwards, 1913)	E, H, P	3	4	7 (0,05)	13 (0,09)
Totale		14.083	682	14.765	14.033

* L'identificativo della località è quella utilizzata in Tabella I

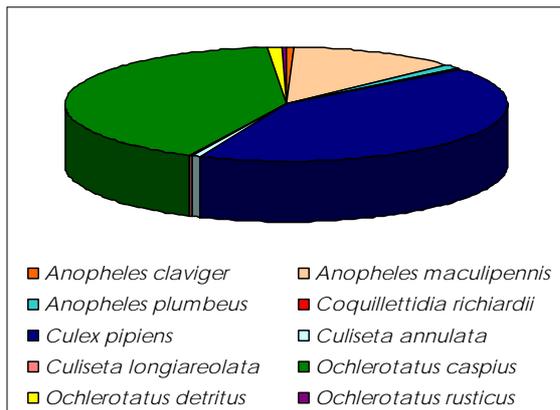


Figura 2
Composizione di specie relativa alle catture di zanzare adulte del 2007 nelle aree di studio

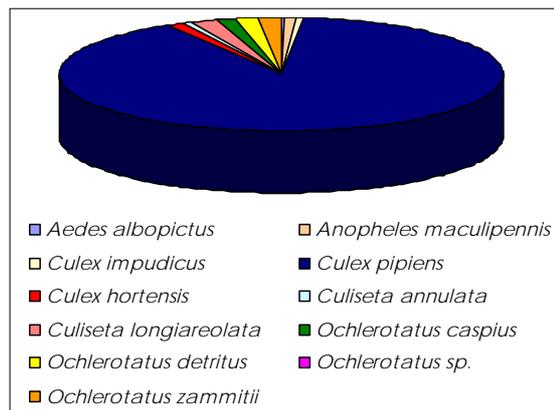


Figura 3
Composizione di specie relativa alle catture di zanzare allo stadio larvale del 2007 nelle aree di studio

Tabella III

Specie di zanzare raccolte nelle aree di studio e il loro ruolo potenziale nella trasmissione del *West Nile virus* (WNV), secondo le informazioni disponibili in letteratura (9, 21, 24, 46, 50, 56, 57, 58)

Genere e specie	Coivolgimento nella trasmissione di WNV altrove*	Ornitofila**	Antropofila**	Potenziale vettore ponte: ornitofila e antropofila **
<i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i> (Skuse, 1894)	X	X	X	-
<i>Aedes (Aedimorphus) vexans</i> (Meigen, 1830)	X	-	X	-
<i>Anopheles algeriensis</i> (<i>Anopheles</i>) Theobald, 1903	-	-	X	-
<i>Anopheles (Anopheles) claviger</i> Meigen, 1804	-	-	X	-
<i>Anopheles (Anopheles) maculipennis</i> Meigen, 1818	X	-	X	-
<i>Anopheles (Anopheles) plumbeus</i> Stephens, 1828	-	X	X	X
<i>Coquillettidia (Coquillettidia) richiardii</i> (Ficalbi, 1889)	X	X	X	X
<i>Culex (Neoculex) impudicus</i> Ficalbi, 1890	-	X	-	-
<i>Culex modestus (Barraudius)</i> Ficalbi, 1889	X	X	X	X
<i>Culex (Culex) pipiens</i> Linnaeus, 1758	X	X	X	X
<i>Culex (Maillotia) hortensis</i> Ficalbi, 1889	-	-	-	-
<i>Culex (Culex) theileri</i> Theobald, 1903	X	-	X	-
<i>Culiseta litorea (Culicella)</i> (Shute, 1928)	-	X	-	-
<i>Culiseta (Culiseta) annulata</i> (Shrank, 1776)	-	X	X	X
<i>Culiseta (Allotheobaldia) longiareolata</i> (Macquart, 1838)	-	-	-	-
<i>Ochlerotatus (Ochlerotatus) caspius</i> (Pallas, 1771)	X	-	X	-
<i>Ochlerotatus (Ochlerotatus) detritus</i> (Haliday, 1833)	-	X	X	X
<i>Ochlerotatus (Ochlerotatus) dorsalis</i> (Meigen, 1830)	X	-	X	-
<i>Ochlerotatus (Finlaya) geniculatus</i> (Olivier, 1791)	-	-	X	-
<i>Ochlerotatus (Rusticoides) rusticus</i> (Rossi, 1790)	-	-	X	-
<i>Ochlerotatus zammitii</i> (Finlaya) (Olivier, 1791)	-	-	X	-
<i>Uranotaenia (Pseudoficalbia) unguiculata</i> (Edwards, 1913)	-	-	-	-

* References 21 e 24

** References 9, 46, 50, 56, 57 e 58

In Italia *An. maculipennis* è presente come complesso di 7 specie: *An. maculipennis*, *An. labranchiae* Falleroni, 1926, *An. atroparvus* Van Thiel, 1927, *An. sacharovi* Favre, 1903, *An. messeae* Falleroni, 1926, *An. melanoon* Hackett 1934, e *An. subalpinus* Hackett e Lewis 1935. *An. maculipennis* come singola specie politipica è presente in Europa, Africa del nord e Asia del nord (17).

An. plumbeus è una specie paleartica, molto comune in Italia; la specie trova ambienti idonei allo sviluppo larvale praticamente ovunque (50) viene spesso trovata in associazione con *Ochlerotatus geniculatus* (Olivier), *Oc. berlandi* Seguy, e con *Orthopodomyia pulcripalpis* (Rondani), nei cavi degli alberi che mantengono acqua all'interno, anche nei parchi urbani (50).

Cq. richiardii ha una distribuzione mediterranea che si estende fino alla regione del Chernovtsky in Russia (17). In Italia la specie è piuttosto rara a causa della perdita degli habitat larvali ma la presenza di questa specie è stata riportata sia nell'entroterra che nelle isole maggiori (50). *Cq. richiardii* è una specie univoltina caratterizzata da un lento sviluppo larvale che va da un anno all'altro, periodo in cui le larve superano la stagione invernale in acque fangose sotto tra la vegetazione. Le femmine si nutrono sia in ambienti chiusi che aperti, sia su uccelli che su mammiferi, uomo compreso (56).

Cx. modestus è una specie ampiamente diffusa in Europa ed in Asia centrale (17); in Italia questa zanzara è presente lungo le pianure costiere delle regioni settentrionali (50). I siti di sviluppo larvale in ambiente rurale sono rappresentati da raccolte d'acqua permanenti o temporanee, spesso rappresentate da canali di irrigazione o di drenaggio; le larve possono anche compiere il ciclo di sviluppo in acque lievemente saline e spesso vengono trovate insieme a quelle di *Cx. pipiens*. Le larve sono reperibili dalla tarda primavera all'inizio dell'autunno ma raggiungono il picco di abbondanza tra luglio e agosto. Questa specie è solita pungere aggressivamente sull'uomo tanto da essere considerata una delle zanzare più fastidiose insieme ad *Oc. caspius* e

Ae. vexans, lungo le coste dell'Italia settentrionale (50).

Cx. pipiens è considerata una specie ubiquitaria e nella regione Palearctica è rappresentata da due forme biologiche, la forma urbana *Cx. pipiens molestus* Forskål (65) e quella rurale *Cx. pipiens pipiens* (50). Le femmine di *Cx. pipiens pipiens*, soprattutto ornitofile, svernano attraversano una fase di ibernazione dall'autunno alla primavera (diapausa), sono anautogeniche (hanno bisogno di effettuare il pasto di sangue per la maturazione delle uova) ed eurigame (hanno bisogno di spazi aperti per accoppiarsi). I focolai larvali sono rappresentati da vari tipi di pozze e contenitori di acqua. Le femmine della forma biologica *Cx. pipiens molestus* invece, sono soprattutto autogeniche (possono produrre uova senza effettuare il pasto di sangue) e stenogame (possono accoppiarsi in spazi limitati) e si riproducono durante il corso dell'intero anno, senza effettuare diapausa. La distribuzione di queste due forme si sovrappone per ampie aree e alcune differenze morfologiche possono essere utilizzate per l'identificazione, come l'indice sifonale anche se questo carattere è apprezzabile soltanto attraverso l'analisi biometrica di una grande quantità di larve (52). A livello biochimico l'analisi elettroforetica di alcuni loci enzimatici può consentire l'identificazione delle zanzare adulte (64).

Cx. theileri è una specie che non presenta una distribuzione continua, in quanto è diffusa nelle Isole Canarie, nella regione mediterranea, nello Yemen, nel sud est dell'Africa e in India (17); la distribuzione in Italia è limitata alle regioni meridionali, alla Sardegna e alla Sicilia. Le larve di *Cx. theileri* effettuano il ciclo di sviluppo nelle risaie, negli stagni e nelle aree paludose dalla primavera all'autunno, raggiungendo la massima densità degli adulti in estate. La specie sverna allo stato di adulto e le femmine effettuano il pasto di sangue al crepuscolo, spesso su uomo (50).

Cs. annulata è ampiamente diffusa in Europa fino all'Anatolia e all'Africa del nord; in Italia risulta molto comune (50). Questa specie mostra attività notturna ed è soprattutto ornitofila anche se può nutrirsi su uomo e animali domestici. Le larve e gli adulti

attraversano un breve periodo di diapausa ma solitamente le femmine possono deporre uova e dare inizio ad una generazione anche durante i mesi più freddi dell'inverno (50).

Oc. caspius ha una distribuzione molto ampia che comprende le coste dell'Europa e del bacino del Mediterraneo tutto (17). In Italia la specie è presente soprattutto lungo le pianure costiere (50). La specie è ampiamente nei pressi delle aree costiere dove siano presenti prati allagati o paludi salmastre che risultano particolarmente adatte per lo sviluppo larvale (48): si tratta di una zanzara presente anche nelle raccolte d'acqua artificiali come risaie e canali di irrigazione (50). L'habitat di elezione di questa specie è costituito dalle valli fluviali dove risulta predominante tra le specie che attaccano uomo e animali (17).

Oc. detritus è una specie ampiamente distribuita nella regione Palearctica, di solito presente lungo le pianure costiere (50). Le larve svernano a differenti stadi di sviluppo e i primi adulti che emergono in primavera risultano particolarmente aggressivi verso l'uomo, infatti si tratta di zanzare particolarmente antropofile (48).

La prevalenza di *Oc. caspius*, *Cx. pipiens* e *An. maculipennis* è dovuta probabilmente alla predominanza quantitativa di queste specie nelle aree umide e negli ambienti peridomestici specialmente in presenza di bestiame e pollame, nonché alla selettività intrinseca delle trappole luminose CDC. Come esempio rappresentativo dell'andamento stagionale di queste specie considerando le popolazioni provenienti da tutte le aree di studio, in **Figura 4** viene mostrata l'abbondanza mensile di queste tre specie risultante dalla somma degli esemplari raccolti in tutte le aree di studio nel 2007. Inoltre, nelle Figure 5, 6 e 7 vengono presentati tre esempi relativi all'abbondanza stagionale dei culicidi in aree di studio con diverse condizioni climatiche: Friuli Venezia Giulia, Puglia e Lazio, rappresentative rispettivamente del nord, sud e centro del paese. Gli andamenti evidenziati dai grafici sono influenzati prevalentemente dalle condizioni climatiche

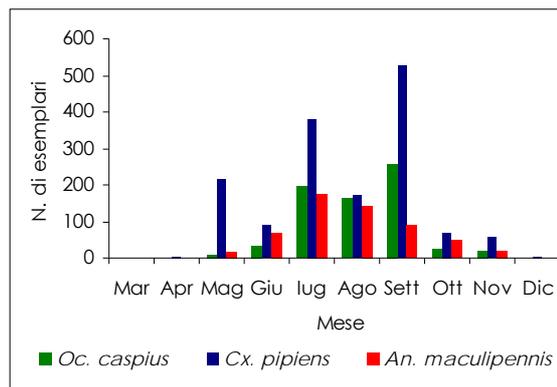


Figura 4
Andamento stagionale di *Ochlerotatus caspius*, *Culex pipiens* e *Anopheles maculipennis* da marzo a dicembre 2007, in base alle catture di zanzare adulte provenienti da tutte le aree di studio

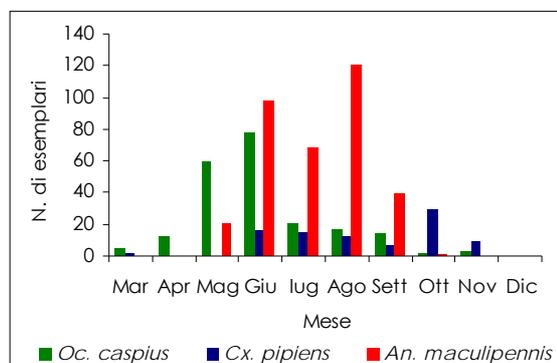


Figura 5
Andamento stagionale di *Ochlerotatus caspius*, *Culex pipiens* e *Anopheles maculipennis* da marzo a dicembre 2007, in base alle catture di zanzare adulte provenienti dall'area di studio del Friuli Venezia Giulia

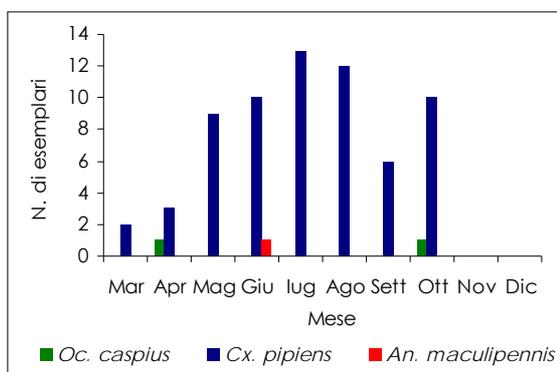


Figura 6
Andamento stagionale di *Ochlerotatus caspius*, *Culex pipiens* e *Anopheles maculipennis* da marzo a dicembre 2007, in base alle catture di zanzare adulte provenienti dall'area di studio della Puglia

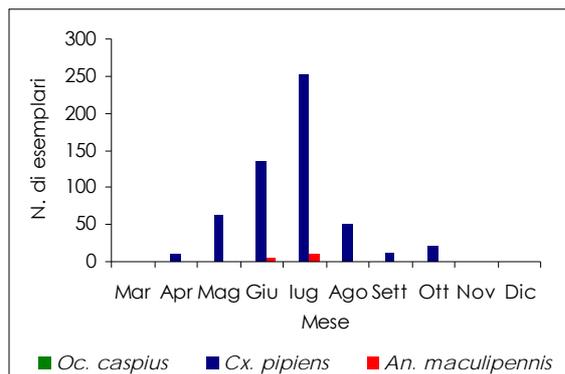


Figura 7
Andamento stagionale di *Ochlerotatus caspius*, *Culex pipiens* e *Anopheles maculipennis* da marzo a dicembre 2007, in base alle catture di zanzare adulte provenienti dall'area di studio del Lazio

quali soprattutto la temperatura la pioggia e l'umidità relativa, che determinano l'aumento o il calo nella presenza di una o più specie.

Oc. caspius, la specie più abbondante lungo le coste dell'Adriatico settentrionale, in particolar modo in Friuli Venezia Giulia, come mostrato in Figura 5, ed in Emilia Romagna, sembra non essere così comune nel Lazio dove risulta assente tra le zanzare adulte raccolte nel 2007 (Fig. 7). Questa specie è tipica degli ambienti costieri come paludi salmastre ed è considerata in grado di giocare un ruolo come vettore di WNV. Tale considerazione è supportata dalla capacità della specie di trasmettere il virus e sulla base di isolamenti virali effettuati altrove in alcuni esemplari (21). In Italia, sebbene questa specie sia nota nutrirsi soprattutto su mammiferi e uomo (Tabella III), può ricoprire il ruolo di vettore ponte, sulla base del fatto che la si trova in alte concentrazioni in fattorie ed in aree turistiche.

Cx. pipiens, considerata generalmente come il vettore di WNV più competente in Europa (55), è risultata essere presente in tutte le aree di studio, mostrando il tipico andamento termofilo con un aumento in primavera ed il picco di abbondanza tra luglio e agosto (Figg. 4, 5, 6 e 7). La maggior parte delle larve raccolte durante il periodo di studio appartengono proprio a questa specie che è considerata per l'appunto la più abbondante nelle aree umide. *Cx. pipiens* ha una vasta gamma di ospiti su cui effettuare il pasto di

sangue, comprese molte specie di uccelli (1), quindi potrebbe amplificare la quantità di WNV circolante alla fine della primavera e all'inizio dell'estate (51). Inoltre questa specie può svolgere il ruolo di vettore ponte (3), trasmettendo il virus da uccelli a cavalli e/o all'uomo (Tabella III). Sebbene le informazioni riportate in letteratura, i membri del complesso *An. maculipennis sensu lato* i membri del complesso sono noti pungere su mammiferi, uomo incluso, piuttosto che su gli uccelli (29), la maggior parte dei nostri esemplari sono stati raccolti in pollai, cosa che ci porta a considerare tali specie come potenziali vettori ponte, anche alla luce dei recenti ritrovamenti di esemplari naturalmente infetti da WNV, avvenuti altrove (21). Tra i membri del complesso, tre isolamenti del virus sono stati effettuati in Portogallo e in Ucraina (21). Nell'esempio riportato per il 2007, *An. maculipennis sensu lato* viene riportata soltanto nei mesi di giugno e luglio nell'area di studio del Lazio, a giugno in quella della Puglia (Fig. 6) mentre è ampiamente distribuita nell'area di studio del Friuli Venezia Giulia, probabilmente a causa delle diverse caratteristiche dei ricoveri per gli animali dove di solito queste zanzare vengono trovate. *An. plumbeus* è una specie relativamente comune nelle fattorie, in piccoli centri abitati e nei parchi urbani, dove si nutre su uccelli e uomo (60). Sebbene questa zanzara presenti le caratteristiche di un potenziale vettore ponte, fino a d ora il virus non è mai stato trovato in questa specie.

Oc. caspius, la specie più abbondante lungo le coste dell'Adriatico settentrionale, in particolar modo in Friuli Venezia Giulia, come mostrato in Figura 5, ed in Emilia Romagna, sembra non essere così comune nel Lazio dove risulta assente tra le zanzare adulte raccolte nel 2007 (Fig. 7). Questa specie è tipica degli ambienti costieri come paludi salmastre ed è considerata in grado di giocare un ruolo come vettore di WNV. Tale considerazione è supportata dalla capacità della specie di trasmettere il virus e sulla base di isolamenti virali effettuati altrove in alcuni esemplari (21). In Italia, sebbene questa specie sia nota nutrirsi soprattutto su mammiferi e uomo (Tabella III), può ricoprire

il ruolo di vettore ponte, sulla base del fatto che la si trova in alte concentrazioni in fattorie ed in aree turistiche. *Cx. pipiens*, considerata generalmente come il vettore di WNV più competente in Europa (55), è risultata essere presente in tutte le aree di studio, mostrando il tipico andamento termofilo con un aumento in primavera ed il picco di abbondanza tra luglio e agosto (Figg. 4, 5, 6 e 7). La maggior parte delle larve raccolte durante il periodo di studio appartengono proprio a questa specie che è considerata per l'appunto la più abbondante nelle aree umide. *Cx. pipiens* ha una vasta gamma di ospiti su cui effettuare il pasto di sangue, comprese molte specie di uccelli (1), quindi potrebbe amplificare la quantità di WNV circolante alla fine della primavera e all'inizio dell'estate (51). Inoltre questa specie può svolgere il ruolo di vettore ponte (3), trasmettendo il virus da uccelli a cavalli e/o all'uomo (Tabella III). Sebbene le informazioni riportate in letteratura, i membri del complesso *An. maculipennis sensu lato* i membri del complesso sono noti pungere su mammiferi, uomo incluso, piuttosto che su gli uccelli (29), la maggior parte dei nostri esemplari sono stati raccolti in pollai, cosa che ci porta a considerare tali specie come potenziali vettori ponte, anche alla luce dei recenti ritrovamenti di esemplari naturalmente infetti da WNV, avvenuti altrove (21). Tra i membri del complesso, tre isolamenti del virus sono stati effettuati in Portogallo e in Ucraina (21). Nell'esempio riportato per il 2007, *An. maculipennis sensu lato* viene riportata soltanto nei mesi di giugno e luglio nell'area di studio del Lazio, a giugno in quella della Puglia (Fig. 6) mentre è ampiamente distribuita nell'area di studio del Friuli Venezia Giulia, probabilmente a causa delle diverse caratteristiche dei ricoveri per gli animali dove di solito queste zanzare vengono trovate.

An. plumbeus è una specie relativamente comune nelle fattorie, in piccoli centri abitati e nei parchi urbani, dove si nutre su uccelli e uomo (60). Sebbene questa zanzara presenti le caratteristiche di un potenziale vettore ponte,

fino a d ora il virus non è ma stato trovato in questa specie.

Oc. detritus è stata una specie piuttosto rara tra quelle identificate durante il nostro studio ma essa potrebbe essere considerata un potenziale vettore ponte poiché le abitudini alimentari e gli aspetti ecologici che la caratterizzano non si discostano molto da quelli osservati in *Oc. caspius*. Ad oggi, non c'è stato nessuno isolamento di WNV da questa specie (21).

Negli Stati Uniti, il WNV è stato individuato in *Ae. vexans* (19), ma questa specie non è stata rinvenuta frequentemente nelle aree di studio sebbene sia comune in Italia (50).

Cq. richiardii si nutre sia su gli uccelli che sull'uomo e alcuni autori la considerano uno dei principali vettori di WNV in Europa dopo *Cx. pipiens* e *Cx. modestus* (18, 24, 55). Comunque il coinvolgimento di questa specie nel ciclo di trasmissione del virus non è stato confermato nella più recente letteratura. In Italia questa zanzara è relativamente rara (situazione riflessa anche dai nostri reperti) e probabilmente non sarebbe in grado di rappresentare un vettore ponte.

La nostra attività di sorveglianza non ha incluso specie ornitofile probabilmente coinvolte nella trasmissione da uccello a uccello, come *Culex (Barraudius) modestus* Ficalbi, che ha avuto il ruolo di vettore enzootico primario durante l'epidemia del 1962 in Francia (36). Abbiamo catturato soltanto un esemplare di questa specie, nonostante si tratti di una zanzara piuttosto comune in Italia. Questo dato è stato probabilmente mancato per le peculiarità dei siti larvali d'elezione della specie e per la azione selettiva delle trappole CDC.

Conclusioni

In conclusione, la sorveglianza nazionale e internazionale della WND è importante per osservare l'eventuale comparsa e diffusione del virus. Ulteriori approfondimenti sugli aspetti ecologici della trasmissione del WNV potrebbero fornire strumenti supplementari, utili per individuare quelle aree riconosciute come maggiormente a rischio rispetto alla malattia.

In generale, in Italia la popolazione di zanzare non è stata mai analizzata su scala nazionale fino ad ora e il presente studio può offrire una utile fonte di informazioni sulla presenza dei potenziali vettori del WNV. In questa prospettiva, è importante che la sorveglianza entomologica prosegua per assicurare una maggiore conoscenza dei potenziali vettori di WNV, nell'ambito di una più ampia attività di monitoraggio che comprende ciascun aspetto coinvolto nella epidemiologia di questo patogeno.

Ringraziamenti

Per la realizzazione di questo lavoro gli autori ringraziano i coordinatori locali della

sorveglianza entomologica e tutti i loro collaboratori. Un particolare ringraziamento a Alda Natale, Gioia Capelli e Fabrizio Montarsi (Veneto, Friuli Venezia-Giulia), Michele Dottori e Mattia Calzolari (Emilia Romagna), Vincenzo Grelloni (Umbria), Stefano Gavaudan (Marche), Mariassunta Cafiero e Giulia Schino (Puglia), Loredana Baldi e Gianluca Miletta (Campania), Angelo Ruiu e Giuseppe Satta (Sardegna), Paola Scaramozzino, Claudio De Liberato, Flavia Farina e Adele Magliano (Lazio), Giovanni Federico (Calabria), Alessandra Torina (Sicilia), Laura Latorre (Basilicata), Nicola Rossi (Molise).

Bibliografia

1. Apperson C.S., Harrison B.A., Unnash T.R., Hassan H.K., Irby W.S., Savage H.M., Aspen S.E., Watson D.W., Rueda L.M., Engber B.R. & Nasci R.R. 2002. Host-feeding habits of *Culex* and other mosquitoes (Diptera: *Culicidae*) in the Borough of Queens in New York City, with characters and techniques for identifications of *Culex* mosquitoes. *J Med Entomol*, **39**, 777-785.
2. Autorino G.L., Battisti A., Deubel V., Ferrari G., Forletta R., Giovannini A., Lelli R., Murri S. & Scicluna M.T. 2002. West Nile virus epidemic in horses, Tuscany region, Italy. *Emerg Infect Dis*, **8**, 1372-1378.
3. Campbell G.L., Marfin A.A., Lanciotti R.S. & Gubler D.J. 2002. West Nile virus. *Lancet Infect Dis*, **2**, 519-529.
4. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 2004. West Nile virus, entomology. CDC, Atlanta (www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/mosquitospecies.htm#04 ultimo accesso 8 Ottobre 2008).
5. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 2006. Mosquito species producing WNV positives by year: 2006. CDC, Atlanta (www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/mosquitospecies.htm#06 ultimo accesso 21 Ottobre 2008).
6. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 2007. West Nile virus activity in the United States. CDC, Atlanta (www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/surv&controlCaseCount07_detailed.htm on ultimo accesso 10 Ottobre 2008).
7. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 2008. West Nile virus activity in the United States (reported to CDC as of October 7, 2008). Update on WNV false-positive test results. CDC, Atlanta (www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/surv&controlCaseCount08_detailed.htm ultimo accesso 10 Ottobre 2008).
8. Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades (CENAVECE) (National Center for Epidemiological Surveillance and Disease Control, Mexico) 2004. Virus del Oeste del Nilo. CENAVECE, Mexico City (www.cenavece.gob.mx/von ultimo accesso 8 Ottobre 2008).
9. Cranston P.S., Ramsdale C.D., Snow K.R. & White G.B. 1987. Adults, larvae and pupae of British mosquitoes (*Culicidae*). Freshwater Biological Association (FBA), The Ferry Landing, Far Sawrey, Ambleside, Cumbria, Scientific Publication No. 48, 152 pp.
10. Dalla Pozza G. & Majori G. 1992. First record of *Aedes albopictus* establishment in Italy. *J Am Mosq Control Assoc*, **8**, 1-3.
11. Dalla Pozza G.L., Romi R. & Severini C. 1994. Source and spread of *Aedes albopictus* in the Veneto region of Italy. *J Am Mosq Control Assoc*, **10** (4), 589-592.
12. Delany S. & D. Scott D. 2002. Waterbird population estimates, Third Ed. Wetlands International, Wageningen, Wetlands International Global Series No. 12, 226 pp.
13. Deubel V. & Zeller H. 2001. West Nile virus. In *The encyclopaedia of arthropod-transmitted infections*. CABI Publishing, Wallingford, Oxon, 133-143.

14. Durand B., Chevalier V., Pouillot R., Labie J., Marendat I., Murgue B., Zientara S. 2002. West Nile virus outbreak in horses, southern France, 2000: results of a serosurvey. *Emerg Infect Dis*, **8**, 777-782.
15. Filippini G., Lelli R., Savini G., Giovannini A., Guberti V., Santucci U., Romi R., Toma L., Goffredo M. & Caporale V. 2005. West Nile Virus surveillance in Italy: results of three years activities. In Proc. Sixth National Conference on West Nile Virus in the United States, 8-9 February, San Jose. Centres for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta.
16. Gariboldi A., Rizzi V. & Casale F. 2000. Aree importanti per l'avifauna in Italia. Lega Italiana Protezione Uccelli (LIPU), Parma, 258.
17. Gutsevich A.V., Monchadskii A.S. & Shtakel'berg A.A. 1974. Fauna of the USSR. Diptera – mosquitoes, Family *Culicidae*. Vol. III No. 4. Academy of Sciences of the USSR, Israel Program for Scientific Translation, Jerusalem, 408 pp.
18. Hannoun C., Panthier R., Mouchet J. & Eouzan J.P. 1964. Isolement en France du virus West Nile à partir de malades et du vecteur *Culex modestus* Ficalbi. *CR Acad Sci Paris*. **259**, 4170-4172.
19. Hayes E.B., Komar N., Nasci R.S., Montgomery S.P., O'Leary D.R. & Campbell G.L. 2005. Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease. *Emerg Infect Dis*, **11** (8), 1167-1173.
20. Health Canada (HC) 2004. West Nile virus monitor 2004. Public Health Agency of Canada, Ottawa (www.phac-aspc.gc.ca/wnv-vwn/mon-hmnsurv-2004-eng.php ultimo accesso 17 Ottobre 2008).
21. Higgs S., Snow K. & Gould E.A. 2004. The potential for West Nile virus to establish outside of its natural range: a consideration of potential mosquito vectors in the United Kingdom. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, **98**, 82-87.
22. Hoogstraal H., Clifford C.M., Keirans J.E., Kaiser M.N. & Evans D.E. 1976. The *Ornithodoros (Alectorobius) capensis* group (Acarina: Ixodoidea: Argasidae) of the Palearctic and Oriental Regions. *O. (A) maritimus*: identity, marine bird hosts, virus infections, and distribution in Western Europe and northwestern Africa. *J Parasitol*, **62**, 799-810.
23. Hubalek Z. 2000. European experience with the West Nile virus ecology and epidemiology: could be relevant for the New World? *Vet Immunol*, **13**, 415-426.
24. Hubalek Z. & Halouzka J. 1999. West Nile fever – a re-emerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg Infect Dis*, **5**, 415-426.
25. Labuda M., Kozuch O. & Gresikova M. 1974. Isolation of West Nile virus from *Aedes albopictus* among mosquitoes in west Slovakia. *Acta Virol*, **18**, 429-433.
26. Lvov D.K., Butenko A.M., Gromashevski V.L., Larichev V.P., Gaidamovich S.Y., Vyshemirski O.F., Zukov A.N., Lazorenko V.V., Salko V.N., Kovtunov A.I., Galimzyanov K.M., Platonov A.E., Morozova T.N., Khutoretskaya N.V., Shishkina E.O. & Skvortsova T.M. 2000. Isolation of two strains of West Nile virus during an outbreak in southern Russia, 1999. *Emerg Infect Dis*, **6**, 373-376.
27. Malkinson M. & Banet C. 2002. The role of birds in the ecology of West Nile virus in Europe and Africa. *Curr Topics Microb Immunol*, **267**, 309-322.
28. Marfin A.A., Petersen L.R., Edison M., Miller J., Hadler J., Farello C., Werner B., Campbell G.L., Layton M., Smith P., Bresnitz E., Cartter M., Scaletta J., Obiri G., Bunning M., Craven R.C., Roehrig J.T., Julian K.G., Hinten S.R. & Gubler D.J. 2001. Widespread West Nile virus activity, eastern United States, 2000. *Emerg Infect Dis*, **7**, 730-735.
29. Medlock J.M., Snow K.R. & Leach S. 2005. Potential transmission of West Nile virus in the British Isles: an ecological review of candidate mosquito bridge vectors. *Med Vet Entomol*, **19**, 2-21.
30. Ministero della Salute 2002. Ministerial Order of 4 April 2002: Piano di sorveglianza nazionale per la encefalomielite di tipo West Nile (West Nile disease). *Gazz Uff*, **113**, 16/05/2002.
31. Ministero della Salute 2004. Ministerial Order of 13 May 2004: Piano di sorveglianza nazionale per la encefalomielite di tipo West Nile (West Nile disease). *Gazz Uff*, **149**, 28/06/2004.
32. Ministero della Salute 2005. Ministerial Order of 13 July 2005: Piano di sorveglianza nazionale per la encefalomielite di tipo West Nile (West Nile disease). *Gazz Uff*, **183**, 08/08/2005.
33. Ministero della Salute 2007. Ministerial Decree of 29 November 2007: Approvazione del Piano di sorveglianza nazionale per la encefalomielite di tipo West Nile (West Nile disease). *Gazz Uff*, **36**, 12/02/2008.
34. Mitchell C.J. 1995. Geographic spread of *Aedes albopictus* and potential for involvement in arbovirus cycles in the Mediterranean basin. *J Vec Ecol*, **20**, 44-58.
35. Moore C.G. & Mitchell C.J. 1997. *Aedes albopictus* in the United States: ten-year presence and public health implications. *Emerg Infect Dis*, **3** (3), 329-334.

36. Mouchet J., Rageau J., Laumond C., Hannon C., Beytout D., Oudar J., Corniou B. & Chippaux A. 1970. Epidémiologie du virus West Nile : étude d'un foyer en Camargue. V. Le vecteur: *Culex modestus* Ficalbi Diptera: Culicidae. *Ann Inst Pasteur*, **118**, 839-855.
37. Mumcuoglu K.Y., Banet-Noach C., Malkinson M., Shalom U. & Galun R. 2005. Argasid ticks as possible vectors of West Nile virus in Israel. *Vector Borne Zoonotic Dis*, **5** (1), 65-71.
38. Murgue B., Murri S., Triki H., Deubel V. & Zeller H. 2000. West Nile in the Mediterranean Basin: 1950-2000. *Ann N Y Acad Sci*, **951**, 117-126.
39. Murgue B., Murri S., Zientara S., Durand B., Durand J.P. & Zeller H. 2001. West Nile outbreak in horses in southern France, 2000: the return after 35 years. *Emerg Infect Dis*, **7**, 692-696.
40. Murgue B., Zeller H. & Deubel V. 2002. The ecology and epidemiology of West Nile virus in Africa, Europe and Asia. *Curr Top Microbiol Immunol*, **267**, 195-221.
41. Naugle D.E., Aldridge C.L. & Walker B.L. 2004. West Nile virus: pending crisis for greater sage-grouse. *Ecol Lett*, **7**, 704-813.
42. O'Malley C.M. 1990. *Aedes vexans* (Meigen, 1830): an old foe. In Proc. 77th Annual Meeting of the New Jersey Mosquito Control Association (NJMCA), 13-15 June, Cherry Hill, New Jersey. NJMCA, New Brunswick, New Jersey, 90-95 (www.rci.rutgers.edu/~insects/sp13.htm ultimo accesso 17 Ottobre 2008).
43. Pan American Health Organization (PAHO) 2004. West Nile virus activity in Latin America and Caribbean. PAHO, Washington, DC (www.paho.org/English/AD/DPC/CD/wnv.htm ultimo accesso 8 Ottobre 2008).
44. Petersen L.R. & Roehrig J.T. 2001. West Nile virus: a re-emerging global pathogen. *Emerg Infect Dis*, **7**, 611-614.
45. Petrarca V., Sabatinelli G. & Coluzzi M. 1980. Significato di alcune differenze biometriche in diverse popolazioni del complesso *Culex pipiens*. *Parassitologia*, **22**, 340-342.
46. Ramsdale C.D. & Snow K.R. 1995. Mosquitoes from northwestern Europe not recorded in Britain. IV. Genus *Aedes*; information on species. *The Entomologist*, **114**, 14-25.
47. Reinert J.F. 2000. New classification for the composite genus *Aedes* (Diptera: Culicidae: *Aedini*), elevation of subgenus *Ochlerotatus* to generic rank, reclassification of the other subgenera, and notes on certain subgenera and species. *J Am Mosq Control Assoc*, **16** (3), 175-188.
48. Rioux J.A. 1958. Les Culicidés du Midi Méditerranéen. In Encyclopédie entomologique, Paul Lechevalier Ed., Paris, 303.
49. Romi R. 2001. *Aedes albopictus* in Italia: un problema sottovalutato. *Ann Ist Sup San*, **37**, 241-247.
50. Romi R., Pontuale G. & Sabatinelli G. 1997. Le zanzare italiane: generalità e identificazione degli stadi preimaginali (Diptera: Culicidae). *Fragmenta Entomol*, **29**, 1-141.
51. Romi R., Pontuale G., Ciufolini M.G., Fiorentini G., Marchi A., Nicoletti L., Cocchi M. & Tamburro A. 2004. Potential vectors of West Nile virus following an equine disease outbreak in Italy. *Med Vet Entomol*, **18**, 14-19.
52. Sabatinelli G. & Petrarca V. 1980. Analisi di alcune differenze morfologiche nel complesso *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae). In Atti XII Congresso Nazionale di Entomologia, 5-9 November, Rome. *Atti XII Congresso Nazionale di Entomologia*, **2**, 387-389.
53. Sabatini A., Raineri V., Trovato G. & Coluzzi M. 1990. *Aedes albopictus* in Italia e possibile diffusione della specie nell'area mediterranea. *Parassitologia*, **32**, 301-304.
54. Sardelis M.R., Turell M.J., O'Guinn M.L., André R.G. & Roberts D.R. 2002. Vector competence of three North American strains of *Aedes albopictus* for West Nile virus. *J Am Mosq Control Assoc*, **18**, 284-289.
55. Savage H.M., Ceianu C., Nicolescu G., Karabatos N., Lanciotti R., Vladimirescu A., Laiv L., Ungureanu A., Romanca C. & Tsai F. 1999. Entomological 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*, **20**, 471-492.
56. Service M.W. 1968. Observations on feeding and oviposition in some British mosquitoes. *Entomol Exp Appl*, **11**, 277-285.
57. Service M.W. 1971. The daytime distribution of mosquitoes resting in vegetation. *J Med Entomol*, **8** (3), 271-278.
58. Service M.W. 1976. Mosquito ecology. Field sampling methods. Applied Science Publications Ltd, London, 583 pp.

59. Smithburn K.C., Hughes T.P., Burke A.W. & Paul J.H. 1940. A neotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. *Am J Trop Med*, **20**, 471-492.
60. Swellengreber N.H. 1954. On *Anopheles plumbeus*. *Riv Parassitologia*, **15**, 667-669.
61. Toma L., Severini F., Di Luca M., Bella A. & Romi R. 2003. Seasonal patterns of oviposition and egg hatching rate of *Aedes albopictus* in Rome. *J Am Mosq Control Assoc*, **19** (1), 19-22.
62. Tsai T.F., Popovici F., Cernescu C., Campbell G.L. & Nedelcu N.I. 1998. West Nile encephalitis epidemic in southeastern Romania. *Lancet*, **352**, 767-771.
63. Turell M.J., Sardelis M.R., Dohm D.J. & O'Guinn M.L. 2001. Potential North American vectors of West Nile virus. *Ann N Y Acad Sci*, **951**, 317-324.
64. Urbanelli S., Coluzzi M., Petrarca V. & Bullini L. 1980. Differenziamento genetico in popolazioni italiane di *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae). In Atti XII Congresso Nazionale di Entomologia, 5-9 November, Rome. *Atti XII Congresso Nazionale di Entomologia*, **2**, 273-280.
65. United States Geological Survey (USGS) 2004. West Nile virus maps. USGS, Washington (westnilemaps.usgs.gov/2004/ ultimo accesso 8 Ottobre 2008).
66. Vinogradova E.B. 2000. *Culex pipiens pipiens* mosquitoes: taxonomy, distribution, ecology, physiology, genetics, applied importance and control. Russian Academy of Sciences, Zoological Institute, Pensoft, Sofia.
67. Weinberger M., Pitlik S.D., Gandacu D., Lang R., Nassar F., Ben David D., Rubinstein E., Izthaki A., Mishal J., Kitzes R., Siegman-Igra Y., Giladi M., Pick N., Mendelson E., Bin H., Shohat T. & Chowers M.Y. 2001. West Nile fever outbreak, Israel, 2000: epidemiologic aspects. *Emerg Infect Dis*, **7**, 686-691.