

SORVEGLIANZA DEI VETTORI DEI VIRUS WEST NILE E USUTU IN LOMBARDIA

Francesco Defilippo (a), Monica Cerioli (a), Mario Chiari (b), Marco Farioli (b), Francesca Faccin (a), Sabrina Canziani (a), Tiziana Trogu (a), Marco Tironi (a), Enrica Sozzi (a), Ana Moreno (a), Antonio Lavazza (a), Davide Lelli (a)

(a) *Reparto di Virologia, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e Emilia-Romagna, Brescia*

(b) *Direzione Generale Welfare, Regione Lombardia, Milano*

Piano di sorveglianza regionale dei virus West Nile e Usutu

La circolazione del virus West Nile (*West Nile Virus*, WNV) è caratterizzata da un ciclo biologico altamente complesso che prevede il passaggio dell'agente patogeno da un elevato numero di specie di uccelli selvatici alle zanzare che agiscono da vettori facilitando la diffusione virale. Il virus può infettare diverse specie, oltre agli uccelli che sono gli ospiti reservoir, tra cui mammiferi, e rettili (1). L'uomo e il cavallo sono ospiti a fondo cieco, ovvero si infettano e possono ammalarsi quando il virus viene introdotto nel torrente circolatorio con la saliva di zanzare infette. Il cavallo e l'uomo condividono la possibilità (nell'1% dei casi) di patologie del sistema nervoso, anche di estrema gravità. (2).

Questo negli anni ha reso necessario attivare una sorveglianza integrata entomologica, veterinaria e umana. Il piano nazionale di sorveglianza per la *West Nile Disease* (WND) prevede quindi un approccio multidisciplinare volto a verificare la presenza del virus nell'ambiente (sorveglianza ornitologica, entomologica e sui cavalli) e alla determinazione del rischio attraverso donatori (di sangue e organi) potenzialmente infetti. Essa ha lo scopo di guidare e ottimizzare la risposta degli enti sanitari e operatori sanitari focalizzando interventi in aree e in periodi target, rappresentando la prima linea di difesa contro questa malattia infettiva in Italia.

L'esperienza di sorveglianza integrata attivata nelle Regioni del bacino padano (Friuli Venezia Giulia, Veneto, Lombardia, Piemonte ed Emilia-Romagna) si è dimostrata funzionale al rilevamento precoce della circolazione di WNV e del virus Usutu (*Usutu Virus*, USUV) e alla stima del rischio sanitario associato, mediante la cattura di zanzare e uccelli e il loro screening di laboratorio per la ricerca del patogeno (3)

In Lombardia l'attività di sorveglianza della WND è svolta dai Dipartimenti di Igiene e Sanità Pubblica e dai Dipartimenti Veterinari e Sicurezza degli Alimenti di Origine Animale delle Agenzie Tutela Salute ATS, dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna (IZSLER), dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise (ISZAM), dai laboratori di riferimento dei casi umani presso Fondazione Istituti di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico (IRCCS) Policlinico San Matteo di Pavia e Azienda Ospedaliera (AO) Sacco e dal Centro Regionale Sangue, con lo scopo principale di fornire informazioni utili al fine di attivare la sorveglianza sanitaria ritenuta più appropriata.

Sorveglianza entomologica

Monitoraggio e sorveglianza sono due termini che vengono spesso confusi o usati indistintamente ma che possiedono in realtà un significato ben distinto. Il monitoraggio consiste in procedure adottate per l'osservazione temporanea o permanente (ad esempio una dinamica di specie) e non è seguita da attività aggiuntive. Un monitoraggio si basa su una raccolta e analisi di dati effettuata allo scopo di quantificare cambiamenti nelle condizioni o valutare l'efficacia di azioni nel conseguire un obiettivo di gestione. Il monitoraggio prevede protocolli standardizzati, una certa periodicità dell'operato e un elevato e adeguato numero di stazioni di raccolta dati.

Il *monitoraggio entomologico* permette di ottenere dati misurabili, oggettivi e confrontabili sulla popolazione di un insetto. Serve infatti a determinarne la densità e la distribuzione in un dato momento e permette di valutare le eventuali variazioni nel tempo, l'efficacia delle azioni di lotta e a preparare appropriate e rapide risposte in caso di necessità.

La *sorveglianza* riguarda invece la raccolta, l'analisi e l'interpretazione sistematica e continua dei dati sanitari essenziali per la pianificazione, l'implementazione e la valutazione della pratica sanitaria pubblica (4). Nella *sorveglianza entomologica*, questi dati riguardano gli insetti vettori di malattie e permettono di calcolare, ad esempio, il tasso di positività ad un determinato arbovirus nelle zanzare e di conseguenza il livello di rischio per l'uomo (5).

A partire dal 2013 è attivo in Regione Lombardia un piano di sorveglianza per la WND che trae origine dalle disposizioni in vigore su tutto il territorio nazionale (*Gazzetta Ufficiale Serie Generale* n. 311 del 10 settembre 2012 e DGR DDUO18138_2018), basato sulla sorveglianza entomologica e integrato con un'intensa attività di sorveglianza sull'avifauna selvatica. In realtà, l'aspetto entomologico di questo Piano di sorveglianza ha subito una tendenza evolutiva: nel corso degli anni, infatti, entomologi specializzati hanno cercato di sviluppare programmi e metodologie di indagine sempre più approfondite e accurate.

Il sistema sviluppato e oggi comunemente utilizzato si basa su trappole attrattive innescate ad anidride carbonica (CO₂) senza fonte luminosa. Le trappole sono disposte su una griglia con maglie 20x20km a coprire prevalentemente l'area pianeggiante considerata a maggior rischio di circolazione del vettore, con alcune eccezioni rappresentate dalle trappole posizionate in provincia di Sondrio. All'interno di ogni quadrante è stata scelta da un entomologo esperto una stazione di cattura fissa idonea per ottimizzare le catture di *Culex pipiens* e *Culex modestus* (6). Nell'ultimo anno di esecuzione (2020) la rete di monitoraggio ha previsto l'attivazione di 44 trappole dall'inizio giugno a fine settembre; la configurazione della rete è osservabile in Tabella 1 e Figura 1.

Tabella 1. Numero di trappole impiegate nella sorveglianza WNV nel territorio delle diverse ATS della Regione Lombardia (2020)

| ATS | Area territoriale di competenza (ex ASL) | N. trappole |
|---------------------|--|-------------|
| Bergamo | Bergamo | 4 |
| Brescia | Brescia | 7 |
| Valpadana | Cremona | 3 |
| Valpadana | Mantova | 8 |
| Città Metropolitana | Lodi | 3 |
| Città Metropolitana | Milano 1 | 3 |
| Città Metropolitana | Milano 2 | 2 |
| Pavia | Pavia | 7 |
| Brianza | Lecco | 1 |
| Insubria | Como | 1 |
| Insubria | Varese | 1 |
| Montagna | Sondrio | 3 |

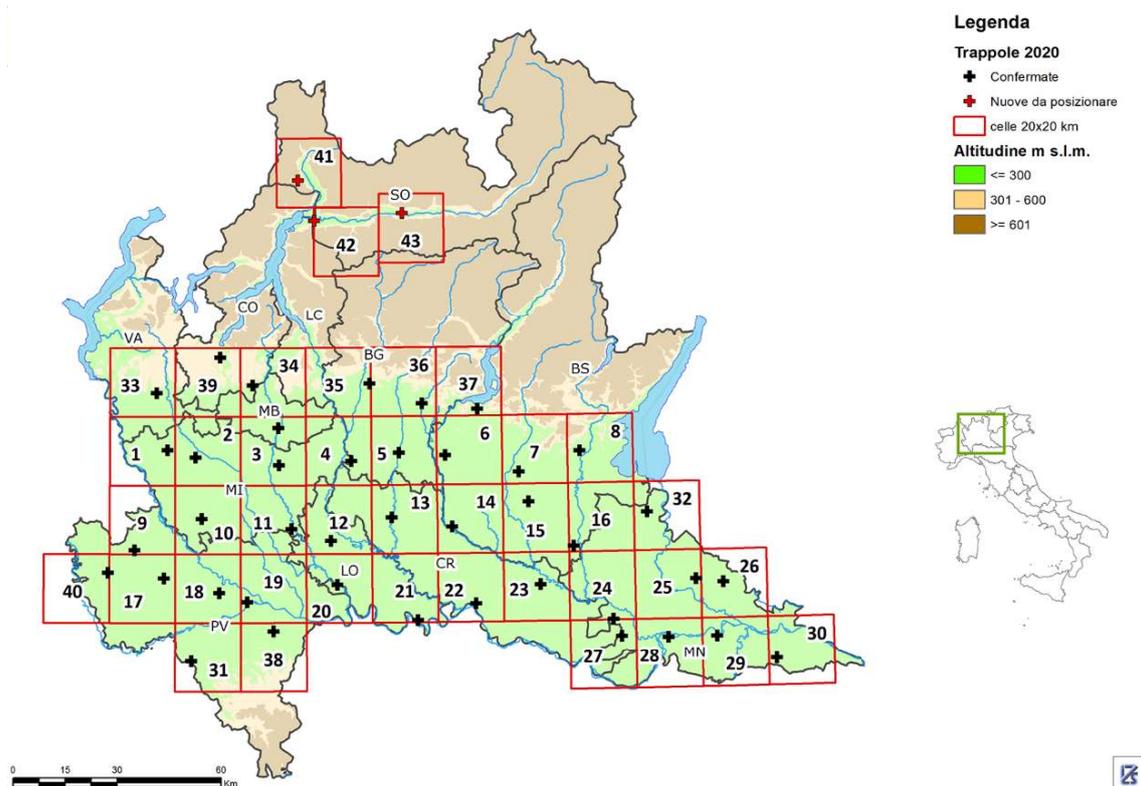


Figura 1. Distribuzione delle trappole CO₂ per la sorveglianza di WNV sul territorio lombardo nel 2020

L'attività di campionamento in campo viene affidata a personale strutturato afferente alle diverse ATS presenti sul territorio. Tutte le trappole sono fornite e gestite dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna (IZSLER) che si fa carico dell'identificazione di specie degli insetti catturati, costituzione dei *pool* e loro analisi virologica.

Le specie *Cx. pipiens* e *Cx. modestus* catturate vengono suddivise in *pool* da un minimo di 1 esemplare a un massimo di 100 individui per specie-sito-data specifici. Dopo conteggio e identificazione, le zanzare vengono sottoposte a *real-time* RT-PCR (*Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction*) per la ricerca di WNV e USUV. Le positività al test molecolare vengono confermate successivamente dal Centro Nazionale di Referenza sulle Malattie Esotiche (CESME) presso l'IZSAM, mentre presso IZSLER si cerca di isolare in vitro su colture cellulari i ceppi dai campioni positivi ai fini di una successiva genotipizzazione.

Dalla data della cattura alla notifica di positività per WNV passa al massimo una settimana (la media degli ultimi anni è di 4 giorni). Tutti i campioni vengono conservati in provette da crioconservazione codificate. Le zanzare delle altre specie non sono suddivise in *pool*, ma ugualmente conservate in provette singole per specie-sito-data. Le positività per WNV nelle zanzare vengono trasmesse via e-mail contemporaneamente alla Direzione Welfare di Regione Lombardia, ai direttori dei servizi delle ATS interessate, al laboratorio regionale di riferimento per le malattie trasmesse da vettori, al centro trasfusionale regionale, alle Regioni confinanti in caso di trappole "parlanti", ovvero poste lungo i confini regionali. Utilizzando questo sistema prevalentemente per la prevenzione delle infezioni trasfusionali – ovvero in caso di positività viene avviato il controllo

sistematico NAT (*Nucleic Acid Test*) delle sacche di soggetti donatori –, seguendo quanto indicato nel piano arbovirale nazionale (7), la Regione Lombardia prevede che sia possibile sospendere la sorveglianza nelle province ove è stata già dimostrata la circolazione virale.

Caratteristiche dell'area di studio

La Lombardia ha una struttura morfologica relativamente semplice. La parte settentrionale è essenzialmente montuosa (più del 40% del territorio regionale è occupato da montagne), mentre la restante metà meridionale della Regione è pianeggiante (oltre il 47% del territorio regionale è occupato dalla pianura), e si estende nel tratto centrale della pianura Padana, a eccezione della parte sudoccidentale, cioè l'Oltrepò Pavese, dove si spingono i rilievi dell'Appennino emiliano.

Da un punto di vista climatico, la Lombardia è classificabile come continentale, mentre le zone montuose sopra i 1500 m presentano caratteristiche tipiche dell'alta montagna Alpina. Tuttavia, così come si verifica per altre Regioni, le caratteristiche climatiche della Lombardia possono variare sensibilmente, anche tra zone non molto distanti, a causa della presenza dei rilievi, dell'esposizione rispetto ai venti dominanti e della presenza di grandi bacini lacustri, capaci di conferire caratteri mediterranei al clima delle aree immediatamente adiacenti. Le temperature variano in base all'esposizione e alla quota del territorio. Le estati sono calde con valori che superano facilmente i 30°C e che, in corrispondenza delle ondate di caldo, possono superare i 35°C nelle conche interne e in Pianura Padana.

L'attività di sorveglianza si concentra soprattutto nella parte di territorio occupato da pianure (Figura 1). Negli anni queste aree sono state soggette a modifiche ambientali, sostituendo ormai da secoli l'originaria foresta di latifoglie con specie coltivate; nell'alta pianura, invece, vaste aree sono tuttora ricoperte da brughiere, con robinie, pini silvestri e varie specie erbacee e arbustive.

Evidenze entomologiche

Nella stagione 2014-2019 sono state catturate in totale 418.788 culicidi di 14 specie diverse, rappresentate per il 65% dalla specie *Culex pipiens* (Tabella 2). L'osservazione dei dati per provincia mostra lo stesso risultato, indicando per quasi tutte le provincie una presenza di *Culex pipiens* superiore al 60% rispetto alle altre specie campionate (Tabella 3).

Tabella 2. Specie di zanzare campionate negli anni 2014-2019 in Lombardia

| Specie | 2014 | 2015 | 2016 | 2017 | 2018 | 2019 | Totale |
|---------------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|--------------|---------------|
| <i>Aedes albopictus</i> | 337 | 662 | 960 | 765 | 858 | 977 | 4559 |
| <i>Aedes caspius</i> | 2967 | 10012 | 7642 | 22880 | 46163 | 22465 | 112129 |
| <i>Aedes geniculatus</i> | | | 1 | | | 7 | 8 |
| <i>Aedes koreicus</i> | | 7 | 2 | | 6 | 26 | 41 |
| <i>Aedes rusticus</i> | | 1 | 5 | | | | 6 |
| <i>Aedes vexans</i> | 386 | 1154 | 2026 | 394 | 1063 | 1172 | 6195 |
| <i>Anopheles maculipennis</i> complex | 1777 | 3820 | 4153 | 3452 | 7001 | 1525 | 21728 |
| <i>Anopheles plumbeus</i> | 3 | 1 | 12 | | 1 | | 17 |
| <i>Coquillettidia richiardii</i> | 14 | 3 | 320 | 54 | 23 | 113 | 527 |
| <i>Culiseta annulata</i> | 19 | 9 | 52 | 32 | 31 | 12 | 155 |
| <i>Culiseta longiareolata</i> | | | 7 | | | | 7 |
| <i>Culex modestus</i> | 183 | 72 | | | | | 255 |
| <i>Culex pipiens</i> | 42274 | 43182 | 62942 | 41179 | 49628 | 33956 | 273161 |
| Totale complessivo | 47960 | 58923 | 78122 | 68756 | 104774 | 60253 | 418788 |

Tabella 3. Numero di esemplari per specie campionati nei 6 anni di osservazione (2014-2019) in Lombardia

| Prov. | <i>Aedes albopictus</i> | <i>Aedes caspius</i> | <i>Aedes geniculatus</i> | <i>Aedes koreicus</i> | <i>Aedes rusiticus</i> | <i>Aedes vexans</i> | <i>Aedes maculipennis</i> complex | <i>Anopheles plumbeus</i> | <i>Anopheles richiardii</i> | <i>Anopheles coquillettidia annulata</i> | <i>Culiseta longiareolata</i> | <i>Culiseta modestus</i> | <i>Culex pipiens</i> | Totale |
|-------|-------------------------|----------------------|--------------------------|-----------------------|------------------------|---------------------|-----------------------------------|---------------------------|-----------------------------|--|-------------------------------|--------------------------|----------------------|--------|
| BG | 221 | 36 | 1 | 105 | 127 | 3 | 4 | 8 | 5 | 10760 ^a | 11270 | | | |
| BS | 436 | 163 | | 1466 | 62 | 1 | 360 | 58 | | 50034 ^a | 52689 | | | |
| CO | 136 | 19 | 15 | 10 | 5 | | 2 | 3 | | 410 | 600 | | | |
| CR | 889 | 249 | 6 | 881 | 19 | | 2 | 22 | 4 | 31088 ^a | 33138 | | | |
| LC | 71 | 64 | 5 | 665 | 5 | | 19 | | | 2887 | 3738 | | | |
| LO | 317 | 5448 | | 353 | 273 | | | | 135 | 20939 | 27465 | | | |
| MI | 360 | 13825 | 1 | 84 | 1331 | | 1 | 5 | 3 | 22646 | 38261 | | | |
| MN | 641 | 3984 | | 1143 | 2314 | 6 | 20 | 31 | 5 | 76543 ^a | 84727 | | | |
| PV | 1303 | 83249 | 1 | 1440 | 17564 | 7 | 5 | 27 | 2 | 57380 | 161048 | | | |
| SO | 12 | | | 35 | 4 | | | | | 133 | 184 | | | |
| VA | 105 | 5029 | 19 | 9 | 24 | | | | | 201 | 5390 | | | |

^a province in cui il numero di *Culex pipiens* supera il 90% del totale degli esemplari di culicidae campionati

L'osservazione del numero di *Cx. pipiens* campionato negli anni mostra un aumento per gli anni 2016 e 2018 (Figura 3).

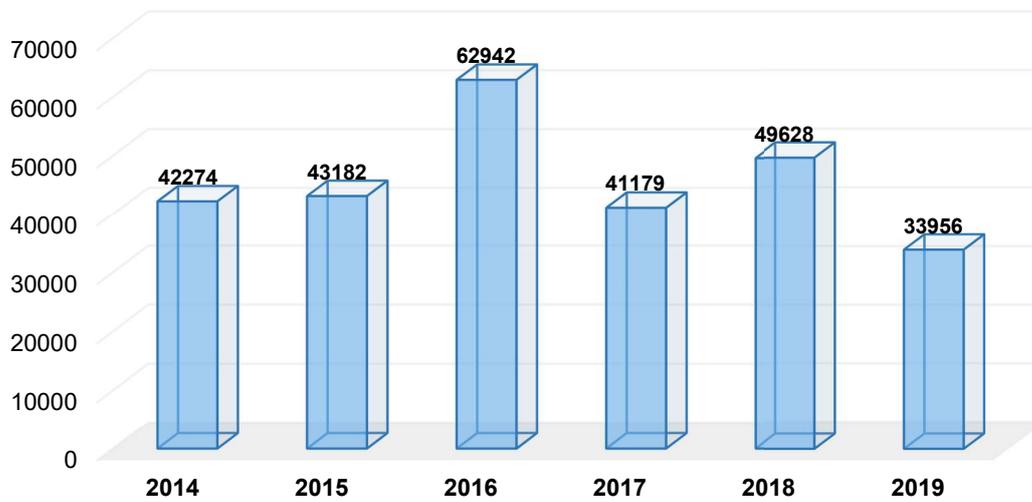


Figura 3. Numero di esemplari di *Culex pipiens* campionati nei 6 anni di osservazione

Al fine di una migliore valutazione del dato e per meglio valutare la diversità ecologica della popolazione di culicidae viene proposto l'andamento delle abbondanze relative (AR) nei 6 anni di campionamento (Figura 4); questo permette di osservare come il numero maggiore di *Cx. pipiens* rispetto alle altre specie è maggiore per gli anni 2014-2016.

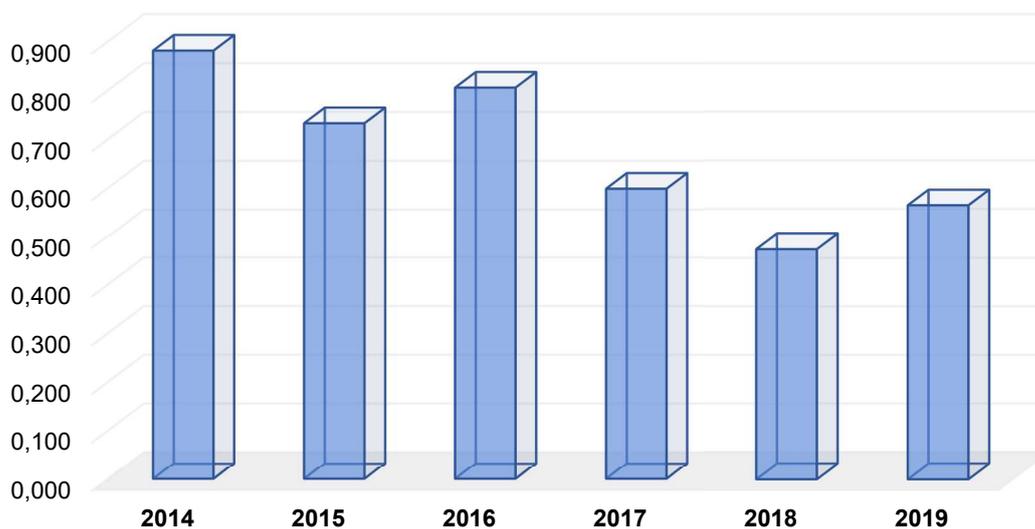


Figura 4. Abbondanza Relativa (AR) di *Culex pipiens* nei diversi anni di campionamento

Una maggiore completezza del dato relativo alla diversità ecologica della popolazione culicidica in Lombardia deve comunque fare riferimento a un contesto provinciale, prevedendo l'uso di specifici indici ecologici calcolati sul numero totale di esemplari campionati per ogni singola stagione osservata. Gli indici di diversità che maggiormente vengono utilizzati sono:

- *indice di dominanza di Simpson* ($\lambda = 1 - \sum p_i^2$), dove $p_i = n_i/N$ [n_i =numero individui del taxon "i" e N =numero totale di individui] (8), che definisce il grado di dominanza (Dominanza = $1 - \text{Simpson index}$) e il suo valore può variare da 0 a 1 (0=tutti i taxa sono ugualmente presenti; 1= un taxon domina completamente la comunità);
- *indice di diversità di Shannon* ($H' = - [\sum (p_i \ln p_i)]$), comunemente usato per caratterizzare la diversità delle specie in una comunità, tenendo conto sia dell'abbondanza che dell'uniformità delle specie presenti (8,9). L'indice misura l'uniformità con cui gli individui sono suddivisi tra i taxa presenti.

Gli indici di diversità in media per le provincie variavano da 0,01 a 0,912 per l'indice di Simpson e da 0,044 a 0,368 per indice di Shannon. L'indice di Simpson per Bergamo, Brescia, Cremona e Mantova è il più alto, indicando una forte dominanza di *Cx. pipiens* sugli altri taxa campionati (Figura 5 e vedi Tabella 3). L'indice di Shannon è stato il più alto per le provincie di Como, Milano e Pavia, mentre il valore più basso si è registrato per Bergamo, Brescia, Cremona e Mantova (Figura 6).

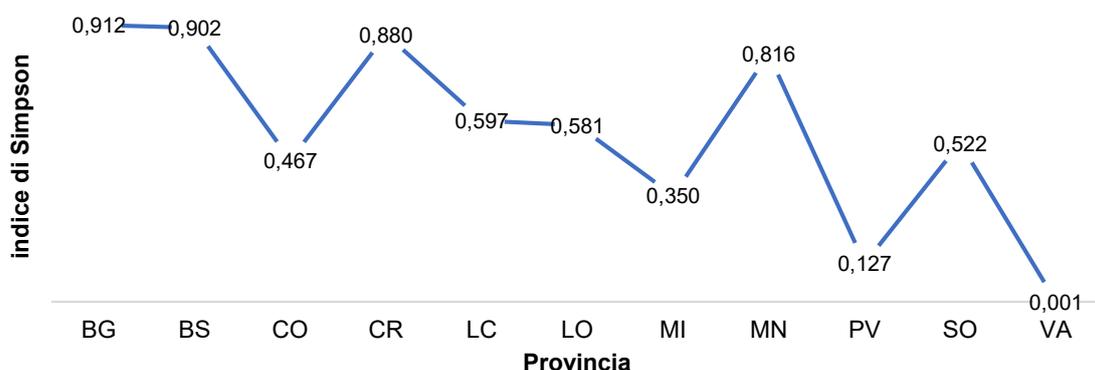


Figura 5. Andamento medio dell'indice di dominanza di Simpson nelle diverse provincie sottoposte a monitoraggio (2014-2019)

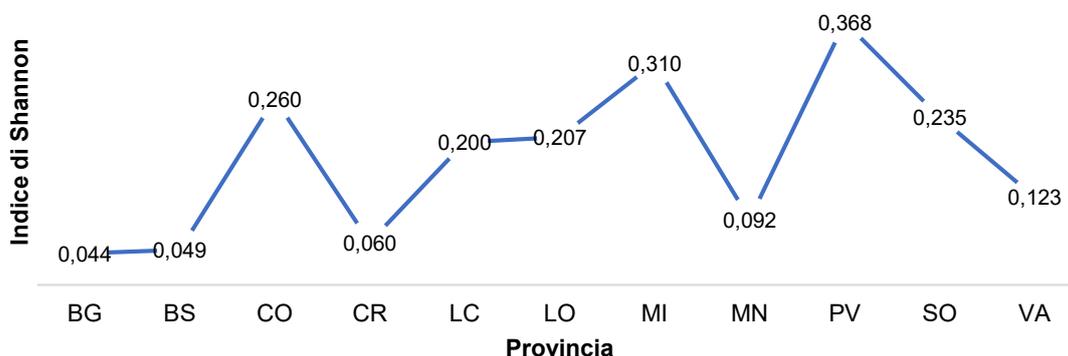


Figura 6. Andamento medio dell'indice di diversità di Shannon nelle diverse provincie sottoposte a monitoraggio (2014-2019)

Circolazione virale di West Nile e Usutu virus nelle zanzare

Dal 2014 al 2019 sono state testate 3805 *pool* di *Cx. pipiens*, con 128 *pool* positivi per WNV e 93 *pool* positivi per Usutu virus (Figura 7).

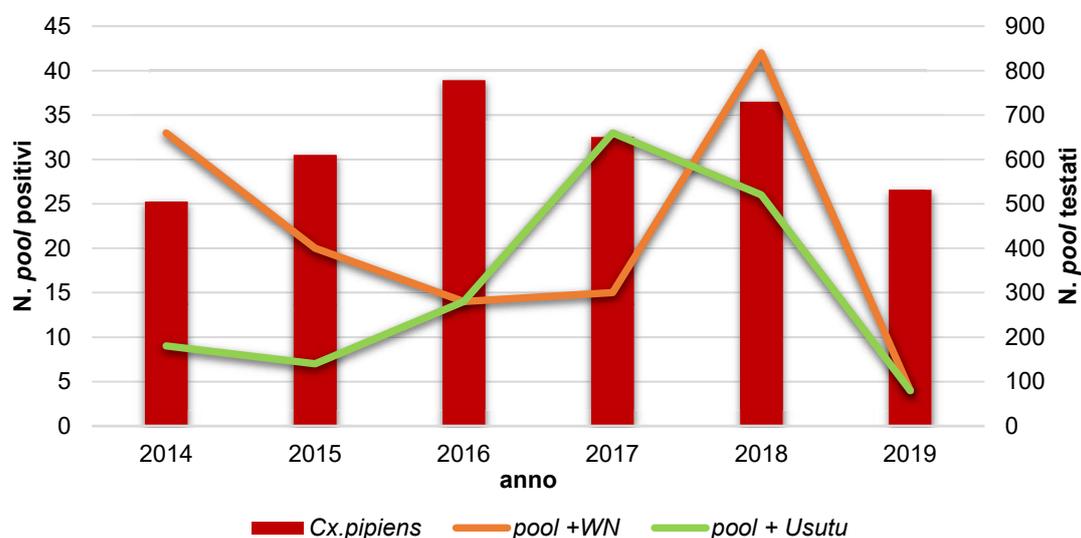


Figura 7. Numero di *pool* di *Culex pipiens* analizzati per anno di campionamento e numero di *pool* positivi per WNV e USUV in Lombardia

Il principio su cui si basa la sorveglianza finalizzata alla prevenzione dell'infezione mediante trasfusioni e trapianti, è che il virus compare molto prima nei volatili e nelle zanzare vettori rispetto ai casi clinici nel cavallo e nell'uomo. Gli anni 2014 e il 2018 sono stati gli anni in cui si è registrata una maggiore circolazione virale (Figure 7 e 8) sia in termini di numero di *pool* di zanzare positive che di presenza del virus negli uccelli.

I primi *pool* stagionali positivi per WNV sono stati campionati, per la maggior parte delle stagioni, nella prima quindicina di luglio (dal 2014 al 2019 rispettivamente: 16/7/2014, 7/7/2015, 5/7/2016, 12/7/2017, 3/7/2018, 30/7/2019). La rilevazione della circolazione di WNV nei *pool* di zanzare ha preceduto in tutte le stagioni la comparsa di casi umani, di fatto confermando la validità dei presupposti di partenza su cui si basa il piano (Tabella 4).

Tabella 4. Data di prima rilevazione della circolazione di WNV nei diversi ospiti per ciascun anno di esecuzione del piano di sorveglianza in Lombardia

| Data prima positività | 2014 | 2015 | 2016 | 2017 | 2018 | 2019 |
|-----------------------|--------|--------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| Zanzare | 16-lug | 07-lug | 05-lug | 12-lug | 03-lug | 30-lug |
| Uccelli | 21-lug | 20-mag | 18-ago | 05-ago | 06-lug | 2-ago |
| Equini | 18-lug | 06-ago | 05-ago | 05-ago | 31-lug | 12-sett |
| Donatori | 12-nov | 06-lug | 09-ago | 10-ago | 09-ago | 23-ott |
| 1° caso umano | 13-ago | 28-lug | 1° sett-ago | 1° sett-ago | 1° sett-ago | 4° sett-sett |

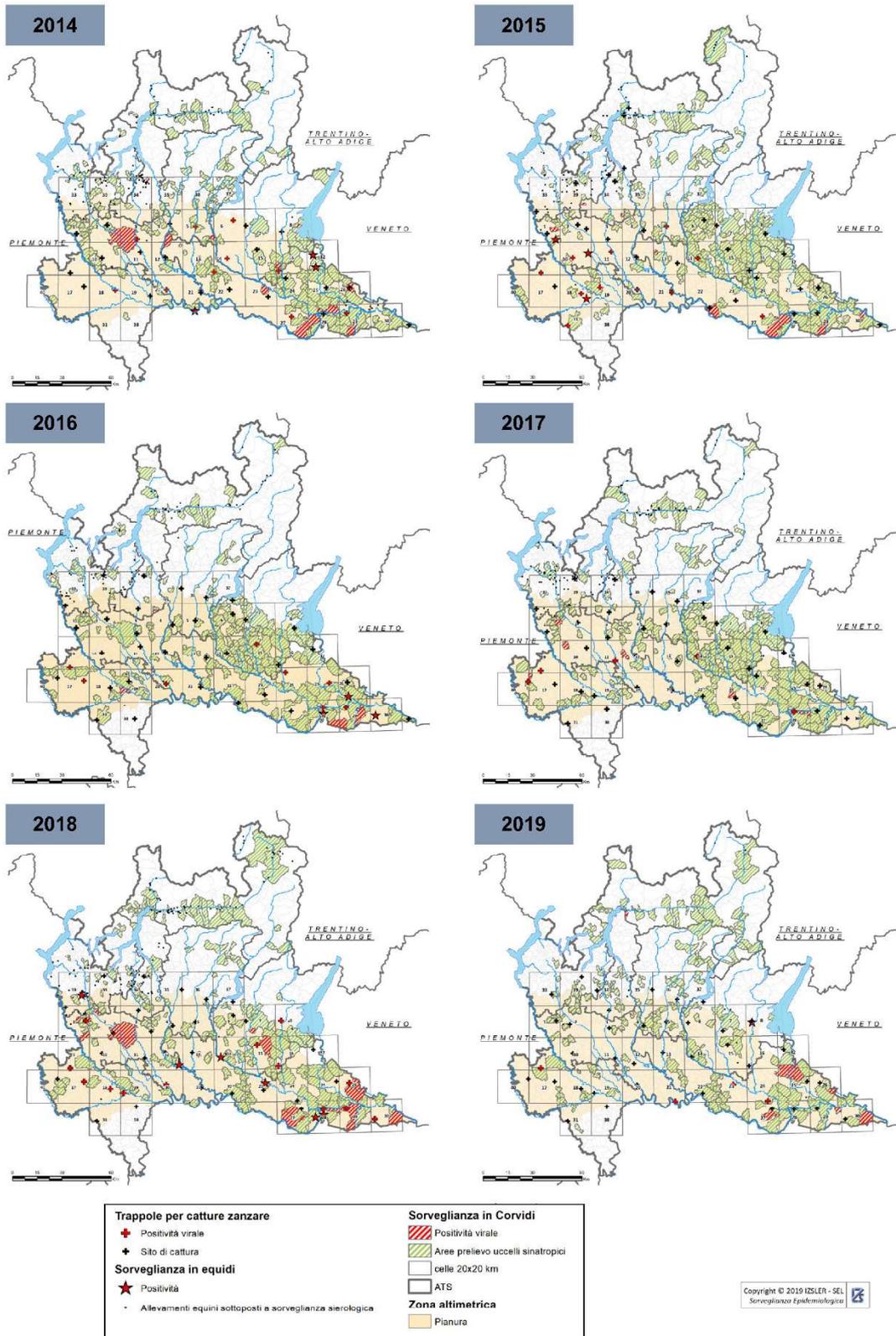


Figura 8. Mappa delle positività per il virus West Nile negli anni 2014-2019 in Lombardia

Come si può notare la sorveglianza entomologica ha sempre anticipato di almeno quasi un mese il primo caso umano e in donatore, tranne nel 2015, anno in cui comunque si è avuta la prima positività in una cornacchia il 20 maggio. La vicinanza temporale di positività nei campioni provenienti dalla sorveglianza entomologica, sorveglianza ornitologica e sorveglianza equini, negli anni 2014 e 2018, potrebbe essere dovuto ad una maggiore circolazione del virus in quegli anni che avrebbe dato luogo a maggior numero di casi umani.

Nel 2018 si è assistito a una anticipazione della circolazione con il primo *pool* positivo per WNV campionato il 03/07/2018. Questo anticipo è stato probabilmente associato ad una precoce comparsa e circolazione delle zanzare che ha coinciso a sua volta con aumentate densità di uccelli (e forse con la nascita delle nuove nidiate), entrambe favorite da una primavera caratterizzata da frequenti eventi piovosi e da temperature superiori alla media.

Discussione

Molti sono gli obiettivi che la sorveglianza entomologica persegue. Essi possono essere così riassunti:

- conoscenza delle specie di insetti vettori presenti nel territorio;
- densità assolute e relative;
- presenza di reali e potenziali vettori di agenti patogeni e tasso d'infezione;
- introduzione di specie nuove di vettori;
- diagnosi precoce di circolazione virale per virus noti (WNV e USUV), ma anche eventuale identificazione di patogeni di nuova introduzione

Pochi sono i dati presenti in letteratura sulla biodiversità nelle popolazioni di zanzare. Dalla nostra analisi, il valore massimo dell'indice di Shannon è pari a 0,368. Secondo uno studio in Brasile, l'indice massimo di Shannon è stato pari a 2,16 (10). In studi svolti in Iran, il valore massimo è stato di 1,7 (11). Normalmente, l'indice di Shannon varia tra 1,5 e 3,5. Un valore inferiore rende quindi difficile interpretare la diversità delle specie (12). Si ritiene che le differenze da noi riscontrate nella letteratura disponibile possano essere dovute alle differenze climatiche, alle dimensioni del campione (interruzione del campionamento a seguito di positività e numero di trappole attive per province) o al metodo di analisi dei dati. D'altro canto, è opportuno ricordare che gli indici di diversità possono differire negli anni e quindi dovrebbero essere confrontati per più stagioni di campionamento (10). In questo contesto, le nostre osservazioni possono rappresentare un valore aggiunto nella stima delle comunità di Culicidae nell'area di sorveglianza alla WND, dato che il confronto è stato eseguito su sei anni di monitoraggio.

Questi dati rafforzano la comprensione della diversità delle zanzare in Lombardia al di là dello studio delle specie di interesse epidemiologico, compresa la descrizione di specie invasive. La Lombardia è prima Regione italiana per popolazione residente e nel corso dei 6 anni di sorveglianza è stata soggetta a continui mutamenti paesaggistici che possono aver causato cambiamenti nella composizione delle comunità di zanzare; ecco quindi che un'analisi di questo tipo potrebbe contribuire all'elaborazione di piani di emergenza per malattie emergenti a seguito di alterazioni antropogeniche.

Studi futuri dovrebbero quindi affrontare la questione delle possibili relazioni tra ricchezza e diversità delle popolazioni di vettori di malattie e il rischio di infezione umana, poiché la maggior parte degli studi si sono finora concentrati sulla diversità degli ospiti vertebrati (sia reservoir che ospiti a fondo cieco).

A tal proposito, sarebbe necessario chiarire anche il ruolo svolto dalle differenze nella struttura delle comunità di zanzare nella determinazione del rischio di trasmissione di malattie infettive in

ecosistemi specifici (es. zone rurali, zone antropizzati, o zone a diverse altitudini). Similmente bisognerebbe indagare il ruolo svolto dagli uccelli nel favorire o meno la circolazione virale in una determinata area, andando a individuare le specie più propensi all'infezione (capacità dell'ospite). Essa può dipendere sia dalla carica virale che questi riescono a maturare (trasmissione da uccello a zanzara) che dalle preferenze di puntura delle zanzare (trasmissione da zanzara a uccello) (13).

Un esempio in tal senso può essere rappresentato da *Aedes caspius* specie mammofila, che occasionalmente si ritrova ingorgata di sangue aviario. Questa specie non è considerata un vettore molto competente per WNV.

Balenghien *et al.* (14), al fine di identificare le specie di zanzare in grado di sostenere la trasmissione di WNV nel sud della Francia, ha valutato tra le altre specie la competenza vettoriale di *Ae. caspius*. Come è stato dimostrato, il suo ruolo nella trasmissione WNV può essere minore. Tuttavia, le densità di *Ae. caspius* possono raggiungere tassi elevati (vedi Tabella 3, province Milano e Pavia), che potrebbero compensare il basso livello di competenza per WNV della specie.

Una valutazione quindi accurata della comunità di zanzare, anche su piccola scala, potrebbe fornire dati preziosi da usare in caso di emergenza epidemica, nonché dare importanti informazioni sulle modalità di gestione e organizzazione dei piani di monitoraggio entomologico.

Se l'intensità del monitoraggio entomologico e la ricerca virale sono adeguati, si avrà la possibilità di intercettare specie di vettori e/o patogeni di nuova introduzione, così come dimostrato nel caso del ritrovamento di adulti di *Aedes koreicus* (vedi Tabella 3). Tra l'altro il pericolo di introduzione di nuovi vector-borne virus è da non sottovalutare in considerazione anche dei flussi migratori e turistici che potrebbero facilitare la introduzione di patogeni oggi endemici in altri parti del mondo, come gli agenti della dengue, della *Rift Valley Fever*, Zika ecc.

Il monitoraggio entomologico, associato a quello ornitologico, negli anni ha dimostrato, di essere in grado di rilevare in modo precoce la circolazione virale prima dell'insorgenza dei casi umani. Dal 2015 l'evidenza di circolazione di WNV in ambito entomologico e veterinario costituisce un importante strumento per definire l'inizio dello screening dei donatori di sangue e organi in una determinata provincia, onde evitare il rischio di trasmissione tramite trasfusioni e trapianti. Ma non solo, indicando per tempo la circolazione del WNV, può contribuire ad assumere misure nella popolazione umana finalizzate ad una maggior prevenzione, non solo in ottica di interventi di disinfestazione, ma anche come comportamenti individuali (uso di repellenti, copertura delle zone corporee più esposte, etc), utili a prevenire il possibile contatto. Questo soprattutto nell'ottica di proteggere gli individui più fragili, come gli anziani e gli immunodepressi in cui la malattia potrebbe acquisire un decorso grave (meningoencefalite), talora infausto.

Di conseguenza, il Piano Nazionale Integrato di sorveglianza per WNV, oggi incluso nel PNA 2020-2025 (7), rappresenta un traguardo importante per la salute pubblica, oltre che un esempio unico di approccio *One Health* applicato.

I dati riportati dimostrano quindi come l'implementazione della sorveglianza entomologica ha negli anni migliorato la raccolta di una serie di informazioni utili alla gestione dell'intero sistema di sorveglianza.

Bibliografia

1. Colpitts TM, Conway MJ, Montgomery RR, Fikrig E. West Nile Virus: biology, transmission, and human infection. *Clinical Microbiology Reviews* 2012;25(4):635– 48.
2. Calzolari M, Pautasso A, Montarsi F, Albieri A, Bellini R, Bonilauri P, Defilippo F, Lelli D, Moreno A, Chiari M, Tamba M, Zanoni M, Varisco G, Bertolini S, Modesto P, Radaelli MC, Iulini B, Prearo M, Ravagnan S, Cazzin S, Mulatti P, Monne I, Bonfanti L, Marangon S, Goffredo M, Savini G, Martini S, Mosca A, Farioli M, Gemma Brenzoni L, Palei M, Russo F, Natalini S, Angelini P, Casalone C,

- Dottori M, Capelli G. West Nile Virus surveillance in 2013 via mosquito screening in Northern Italy and the Influence of weather on virus circulation. *PLoS One* 2015;10(10):e0140915. Erratum in: *PLoS One* 2015;10(12):e0146436
3. Rizzo C, Napoli C, Venturi G, Pupella S, Lombardini L, Calistri P, Monaco F, Cagarelli R, Angelini P, Bellini R, Tamba M, Piatti A, Russo F, Palù G, Chiari M, Lavazza A, Bella A. West Nile virus transmission: results from the integrated surveillance system in Italy, 2008 to 2015. *EuroSurveillance* 2016;21(37)
 4. Thacker SB, Berkelman RL, Stroup DF. The Science of Public Health Surveillance. *Journal of Public Health Policy* 1989;10(2):187-203.
 5. Beaty BJ, Marquardt WC. *The biology of disease vectors*. University press of Colorado; 1996
 6. Lundstrom JO. Mosquito-borne viruses in Western Europe: a review. *Journal of Vector Ecology* 1999;24:1-39.
 7. Piano nazionale di prevenzione, sorveglianza e risposta alle Arbovirosi (PNA) 2020-2025. A cura di Ministero della Salute - Direzione generale della Prevenzione sanitaria. 2019. https://www.salute.gov.it/portale/documentazione/p6_2_2_1.jsp?id=2947
 8. Magurran AE. Why diversity? In: *Ecological diversity and its measurement*. 1 Ed., Dordrecht: Springer; 1988. p. 1–5.
 9. Taylor LR. A variety of diversities. In: Mound LA, Waloff N (Ed.). *Diversity of Insect Fauna. Symposia of the Royal Entomological Society of London*. 9, 1978. New York, 1978. p. 1-18.
 10. Ferreira-de-Freitas V, França RM, Bartholomay LC, Marcondes CB. Contribution to the biodiversity assessment of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Atlantic Forest in Santa Catarina, Brazil. *Journal of Medical Entomology* 2017;54:368-76. doi: 10.1093/jme/tjw196. PMID: 28011728.
 11. Keshavarzi D, Soltani Z, Ebrahimi M, Soltani A, Nutifafa GG, Soltani F, Faramarzi H, Amraee K, Hassanzadeh A. Monthly prevalence and diversity of mosquitoes (Diptera; Culicidae) in Fars Province, Southern Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 2017;7:112-20.
 12. MacDonald G. *Biogeography: introduction to space, time and life*. 1 ed. New York: John Wiley and Sons; 2003.
 13. Takken W, Verhulst NO. Host preferences of blood-feeding mosquitoes. *Annual Review of Entomology* 2013;58:433-53.
 14. Balenghien T, Vazeille M, Grandadam M, Schaffner F, Zeller H, Reiter P, Sabatier P, Fouque F, Bicout DJ. Vector competence of some French *Culex* and *Aedes* mosquitoes for West Nile virus. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 2008;8(5):589-95. doi: 10.1089/vbz.2007.0266. PMID: 18447623.