

## MONITORAGGIO DELLA ZANZARA TIGRE IN EMILIA-ROMAGNA

Marco Carrieri (a), Alessandro Albieri (a), Paola Angelini (b), Claudio Venturelli (c),  
Carmela Matrangolo (c), Romeo Bellini (a)

(a) Centro Agricoltura Ambiente "G. Nicoli", Settore Entomologia e Zoologia Sanitarie, Crevalcore,  
Bologna

(b) Servizio Prevenzione collettiva e Sanità pubblica Regione Emilia-Romagna, Bologna

(c) Dipartimento Sanità Pubblica, AUSL della Romagna, Cesena

*Aedes albopictus* è una specie di origine asiatica introdotta in Italia alla fine degli anni '80 e segnalata per la prima volta in Emilia-Romagna a metà degli anni '90 del secolo scorso in un deposito di pneumatici usati alla periferia di Bologna. Negli anni successivi questa specie si è diffusa rapidamente in gran parte della Regione e nel 2005 l'Assessorato alle Politiche per la Salute della Regione Emilia-Romagna (RER) attivò un progetto sperimentale di sorveglianza per raccogliere informazioni sulla evoluzione della colonizzazione dell'insetto in Regione, con il coordinamento affidato al Dipartimento di Sanità Pubblica di Cesena (1).

Nell'estate del 2007 un inatteso evento epidemico di chikungunya (il primo in Europa causato dalla zanzara tigre) interessò diverse località della Romagna con oltre 300 casi di malattia; l'evento suscitò un forte allarme nell'opinione pubblica e aumentò la consapevolezza dei rischi sanitari e della necessità di rafforzare l'azione di contrasto a questo vettore. Il Servizio Sanitario della RER nel 2008 elaborò un primo Piano Regionale di sorveglianza e controllo delle Arbovirosi (PRA) dedicandovi risorse economiche per attività di ricerca, di sorveglianza e di supporto tecnico ed economico alle Amministrazioni Locali per le attività di controllo di loro competenza (2).

Nel 2008 la RER costituì un gruppo tecnico regionale allo scopo di guidare e coordinare le attività necessarie per l'attuazione del PRA con un approccio omogeneo sul territorio regionale, di individuare strategie più efficaci di contenimento e di sorveglianza del vettore (3), di condividere le conoscenze acquisite e supportare gli operatori coinvolti nella sorveglianza e nella gestione delle attività di lotta e di contribuire all'informazione e al coinvolgimento dei cittadini nella prevenzione.

Tra le attività previste nel PRA c'era la realizzazione di una rete di monitoraggio regionale che qui presentiamo.

Il monitoraggio della zanzara tigre in Emilia-Romagna si basa soprattutto sull'impiego di ovitrappole che sono ampiamente utilizzate a livello mondiale per il rilevamento delle specie *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. Le ovitrappole presentano numerosi vantaggi rispetto ad altri tipi di trappola, quali l'elevata sensibilità (capacità di rilevare la presenza dell'insetto anche a basse densità), la facilità di gestione in campo (non richiedono personale specializzato) e basso costo del materiale (una ovitrappola costa pochi euro).

Le ovitrappole sono costituite da contenitori in plastica di colore nero riempite con una soluzione di acqua e *Bacillus thuringiensis israelensis* (1 mL/litro) per evitare lo sviluppo delle larve e al cui interno viene fissato, con una graffetta, il substrato dove le femmine di *Ae. albopictus* depongono le uova (es. una listella di masonite). Fino al 2009 le ovitrappole impiegate in Emilia-Romagna avevano un volume di 400 mL e i substrati di deposizione venivano sostituiti con cadenza settimanale. Dal 2010 sono state adottate trappole di dimensioni più grandi (volume di 1400 mL) che rendono possibile una manutenzione ogni due settimane con una riduzione significativa dei costi di gestione della rete di monitoraggio.

Le femmine di zanzara tigre non depongono le uova in un unico sito di riproduzione, ma le distribuiscono in diversi contenitori (fenomeno chiamato *skip oviposition*) e il numero di uova deposte dipende dalle caratteristiche fisico-chimiche del contenitore (4). Per raccogliere dati quantitativi confrontabili e avere una stima sufficientemente affidabile della densità di popolazione, è necessario scegliere con cura e con criteri univoci il numero di ovitrappele da attivare in ogni area urbana e le caratteristiche ambientali delle stazioni di rilevamento.

## Numero di stazioni di monitoraggio

Il numero ottimale di trappole per avere una stima della densità di popolazione attendibile dal punto di vista statistico è funzione della densità e della distribuzione spaziale dell'insetto che a sua volta dipende dalle caratteristiche ambientali, climatiche e dalla fase di colonizzazione del territorio (nella fase iniziale di colonizzazione la distribuzione di *Ae. albopictus* è irregolare e aggregata, a macchia di leopardo, mentre a colonizzazione avvenuta la distribuzione è più omogenea). Per quantificare il grado di aggregazione dei dati di monitoraggio è possibile utilizzare l'equazione di Taylor (5, 6, 7), dalla quale vengono ricavati due parametri "a" e "b" che dipendono dall'aggregazione dei dati, dalla dimensione dell'unità di campionamento e dalle condizioni ambientali. Attraverso questi parametri è possibile dimensionare la rete di rilevamento e definire il numero minimo di trappole dell'unità di campionamento (es. un Comune) per avere una stima con un grado di precisione D. Si considera ottimale un  $D = 0,1$  (8), mentre un D compreso tra 0,2 e 0,3 è considerato sufficiente per il monitoraggio di *Ae. aegypti* da Mogi *et al.* 1990 (9):

$$N = [Z_{\alpha/2} / D]^2 * a * m^{b-2}$$

dove Z è il valore della distribuzione normale standardizzata per una probabilità data (10), D è il grado di precisione, "a" e "b" i coefficienti di Taylor e "m" la media.

Nel 2008 il monitoraggio in Emilia-Romagna è stato attivato nel 64% dei Comuni regionali (la maggior parte dei Comuni di pianura), adottando due coefficienti di precisione:  $D = 0,2$  per i Capoluoghi di Provincia in Romagna dove nel 2007 si erano registrati il maggior numero di casi di chikungunya e  $D = 0,3$  per tutte le aree urbane con una superficie superiore a 600 ettari. Nelle aree con una superficie inferiore a 600 Ha sono state attivate un numero variabile di trappole da 5 a 20 in funzione della disponibilità economica dei Comuni, ma i dati raccolti (non significativi dal punto di vista statistico) sono stati utilizzati solo per una stima a livello provinciale. La rete negli anni è stata estesa fino a raggiungere nel 2013 il 76% dei Comuni della Regione (Tabella 1) (11, 12).

**Tabella 1. Quadro storico del monitoraggio di *Aedes albopictus* in Emilia-Romagna**

Anno	N. ovitrappele	N. Comuni	Periodicità di raccolta (gg)
2008	2744	242	7
2009	2606	245	7
2010	2777	256	14
2011	2783	256	14
2012	2581	253	14
2013	2705	262	14
2014	2646	257	14
2015	2640	256	14
2016	2640	254	14
2017	755	10	14
2018	755	10	14
2019	755	10	14
2020	755	10	14

L'analisi dei dati raccolti col sistema di sorveglianza descritto ha consentito di verificare come la zanzara tigre fosse stabilmente insediata in tutta la Regione, con picchi stagionali da fine luglio a fine agosto e di evidenziare un livello di infestazione molto alto in tutta la pianura, senza differenze significative tra aree provinciali. Si è quindi proceduto a una valutazione del potenziale informativo che il sistema di sorveglianza con ovitrappole può garantire in una logica costo-beneficio, arrivando a una ridefinizione degli obiettivi del monitoraggio con il passaggio da un ritorno informativo su scala regionale a uno focalizzato sui centri abitati più grandi e la verifica, attraverso un periodo di sperimentazione, della possibilità di usare i dati in modo operativo (vedi capitoli successivi).

Dal 2017 si è quindi deciso di mantenere il monitoraggio solo nei 10 Capoluoghi di Provincia, adottando un livello di precisione  $D = 2,0-2,5$  e attivando complessivamente 755 ovitrappole.

## Scelta delle stazioni di rilevamento e gestione del monitoraggio

Le condizioni micro-ambientali delle stazioni di rilevamento influenzano fortemente l'efficacia delle ovitrappole (13) e devono quindi essere individuate con criteri univoci da tecnici esperti. Per garantire la copertura omogenea del territorio, sulla base di foto satellitari, l'area urbana viene suddivisa in quadranti e in ognuno viene posizionata una ovitrappola scegliendo luoghi sicuri, facilmente accessibili, ombreggiati e rappresentativi dell'ambiente del quadrante. La gestione delle ovitrappole è stata realizzata ogni 7 giorni fino al 2009 e ogni 14 giorni dal 2010, da personale incaricato dai singoli Comuni.

Il periodo stagionale di monitoraggio va da metà maggio circa alla prima settimana di ottobre (settimane da 21 a 40), mentre nel periodo invernale il numero di ovitrappole è ridotto a 110.

I substrati di deposizione raccolti sono inviati per l'analisi e il conteggio alla Rete dei Laboratori Provinciali dell'Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale (ARPAE) e, nei primi anni di monitoraggio, anche alle Università di Parma e Ferrara.

A supporto della gestione delle ovitrappole in campo è stata predisposta una istruzione operativa aggiornata annualmente e scaricabile dal sito internet istituzionale (<https://www.zanzaratigreonline.it/it/approfondimenti/documenti-tecnici>).

## Validazione dei dati

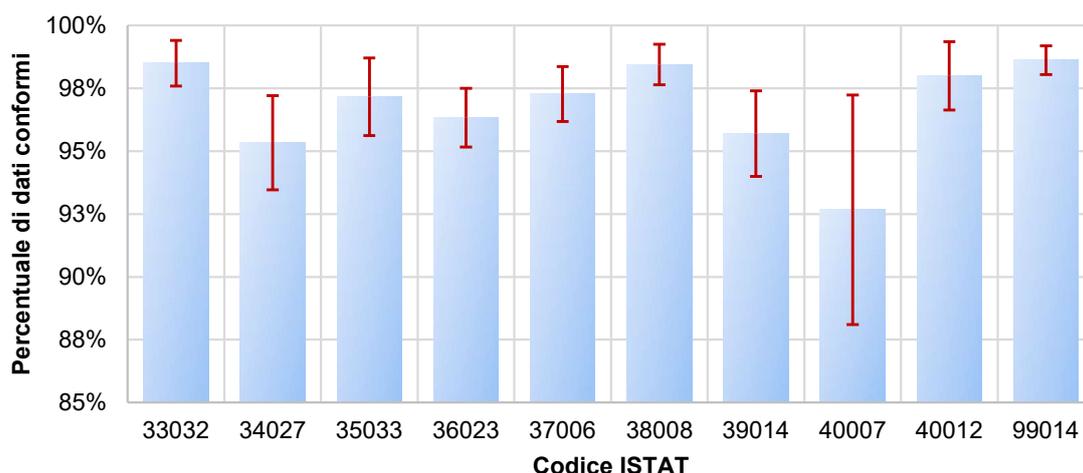
Dal 2014 è stata introdotta una procedura per la verifica della qualità dei dati raccolti dalla rete di monitoraggio regionale in campo e il conteggio delle uova. L'obiettivo è quello di inserire in archivio solo i dati che hanno superato l'esame di validazione (14).

Il protocollo adottato prevede diversi livelli di validazione.

Il primo livello consiste in un controllo preliminare di tutti i dati di gestione raccolti in campo e viene realizzato dal laboratorio di analisi prima e durante il conteggio uova (ovitrappole secche, rovesciate, manipolate, sparite). I dati validati sono sottoposti ad ulteriori livelli di validazione, mentre i dati non conformi vengono eliminati dal data base (Figura 1).

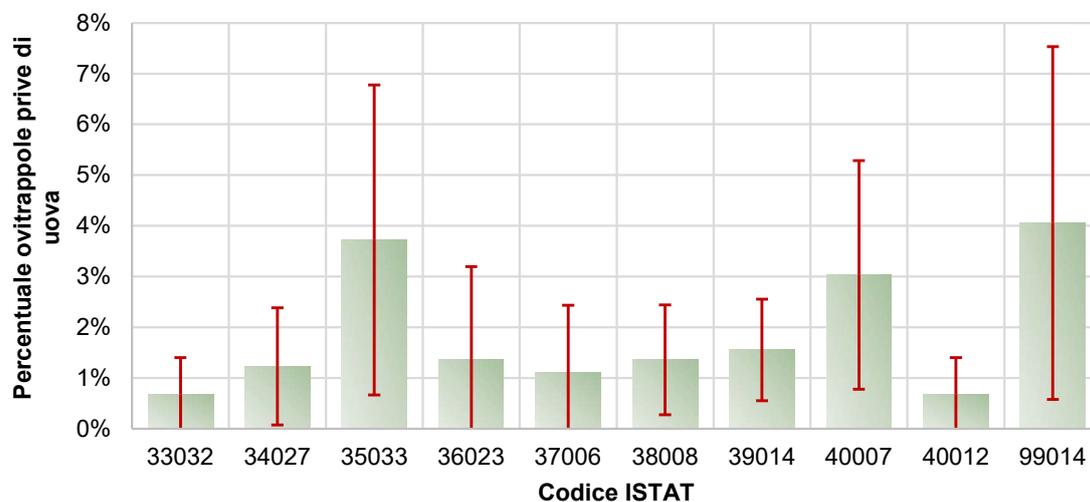
In caso di non conformità di un numero elevato di dati (superiore al 10%) per più di due turni viene attivata una indagine per verificarne le cause.

Il secondo livello di validazione dei dati avviene attraverso l'impiego di due semplici algoritmi.



**Figura 1. Percentuale di dati conformi al primo step di validazione (controllo preliminare dei dati di gestione in campo) rilevata nel 2020 nei capoluoghi di provincia della Regione Emilia-Romagna. Le barre indicano gli Intervalli di Confidenza al 95% (IC $\pm$ 95%)**

Nel periodo compreso tra luglio e settembre la percentuale di ovitrappele prive di uova deve essere inferiore al 5%. In questo periodo la popolazione di *Ae. albopictus* raggiunge infatti la massima densità e diffusione sul territorio e le ovitrappele senza uova devono essere considerate un evento molto raro. Se il numero di substrati di deposizione negativi è superiore al 5% per due raccolte consecutive, il sistema richiede che i dati vengano sottoposti a ulteriori passaggi di convalida prima di essere inclusi nel database (Figura 2).



**Figura 2. Secondo livello di validazione della qualità di monitoraggio. Percentuale di ovitrappele prive di uova rilevata nei capoluoghi di provincia della RER nel 2020 (IC $\pm$ 95%)**

Per una data area urbana la variazione relativa del numero medio di uova rispetto alla media storica (AM) è generalmente bassa. L'eventuale scostamento significativo dal valore atteso indica

un cambiamento anomalo della dimensione della popolazione che può essere legato a cambiamenti nelle attività di lotta, ad effetti metereologici locali o ad una gestione non corretta del monitoraggio. Si considera che il valore AM si possa discostare al massimo del 50% dal rapporto rilevato negli anni precedenti validati, secondo l'equazione:

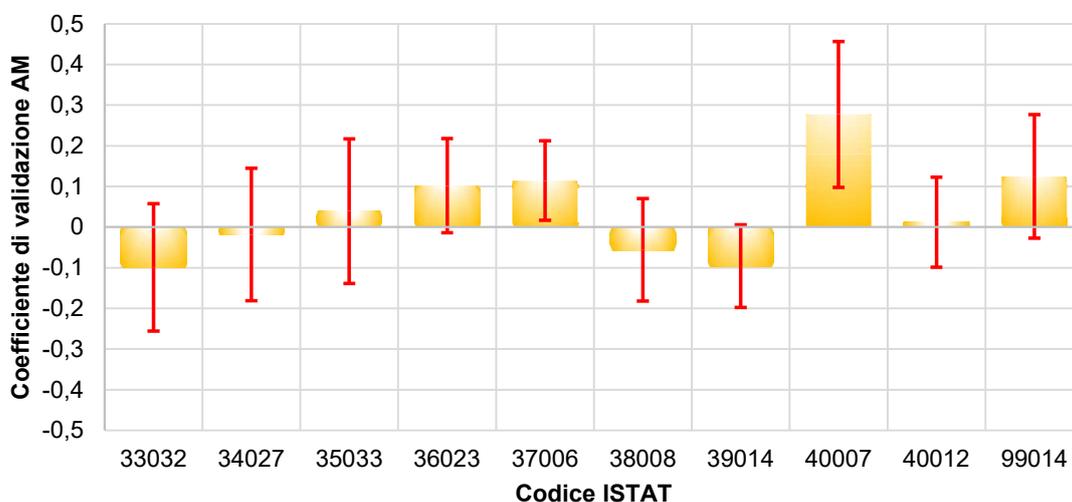
$$AM = (AM0-AMt)/AM0$$

$AM0=Mc0/Mr0$  dove  $Mc0$  è la media storica (media dei dati validati) registrata nel Comune negli anni precedenti e  $Mr0$  è la media storica della Regione.

$AMt= Mct / Mrt$  dove  $Mct$  è la media dei dati sottoposti a validazione del Comune e  $Mrt$  la media regionale.

AM è positivo quando il numero di uova raccolte è inferiore al previsto e viceversa AM è negativo quando il numero di uova è superiore al previsto.

Il valore  $Mct$  è ritenuto "non conforme" quando  $AM \geq \pm 0,50$  per due turni consecutivi di monitoraggio nel periodo compreso tra luglio e settembre. Nel caso in cui il valore non risulti conforme i dati sono sottoposti al successivo livello di validazione (Figura 3).



**Figura 3. Secondo livello di validazione. Variazione anomala della dimensione della popolazione AM. Esempio di coefficienti AM nel processo di validazione rilevato nei capoluoghi di provincia della RER nel 2020 (IC±95%)**

I dati che risultano non conformi al secondo livello vengono sottoposti al terzo livello con quattro passaggi consecutivi di convalida prima di essere inclusi nel database:

- analisi delle condizioni climatiche locali per evidenziare eventuali anomalie che possano aver influenzato il monitoraggio (per esempio prolungati periodi di siccità locale);
- valutazione delle attività di lotta svolte dal Comune. L'incremento delle attività di disinfestazione (per esempio col metodo Porta-a-Porta o il metodo Sterile Insect Technique) potrebbe determinare un calo sensibile della popolazione, così come un blocco delle attività di disinfestazione potrebbe produrre un incremento della popolazione;
- ispezione entomologica in campo per verificare il corretto posizionamento e la corretta gestione delle ovitrappole;
- ri-conteggio delle uova sui substrati di deposizione, il conteggio viene considerato accettabile se si riscontra variabilità inferiore al 10%.

Se vengono riscontrate anomalie nei suddetti controlli i dati vengono considerati non validi ed eliminati dal database. Se non si osservano anomalie i dati vengono ulteriormente valutati con un quarto livello che prevede il campionamento in campo della densità di femmine attraverso catture standardizzate su uomo (*Human Landing Collection*, HLC) e il confronto tra il numero teorico di uova “E” stimato tramite il numero di femmine catturate “F” (HLC) e le uova raccolte in campo attraverso il monitoraggio, utilizzando l’equazione:

$$E = (128,85 * F) - 63,23 \quad (15)$$

Oltre alla validazione dei dati raccolti in campo la rete di laboratori deputata all’analisi dei substrati di deposizione ha sviluppato una procedura di verifica della classificazione e del conteggio delle uova. Sono stati identificati diversi passaggi e sono stati sviluppati protocolli per il controllo di qualità nella formazione continua dei tecnici, controlli giornalieri intra-laboratorio (il doppio conteggio casuale dei substrati) e confronti periodici inter-laboratorio. Infine, nel caso di substrati con molte uova (>1000 uova), per ridurre i tempi di analisi, è stato sviluppato un metodo di conteggio che prevede l’impiego di una griglia trasparente e il conteggio delle uova solo in alcuni quadranti (16).

I dati così validati vengono inseriti nel DB regionale e resi disponibili nel sito <https://www.zanzaratigreonline.it/it/monitoraggio/dati-di-monitoraggio>.

## Andamento stagionale storico dei dati di monitoraggio

La schiusura delle uova invernali diapausanti avviene gradualmente da marzo ad aprile e gli adulti della prima generazione compaiono normalmente verso fine aprile - inizio maggio. Nella prima fase di sviluppo stagionale la velocità di accrescimento di *Ae. albopictus* è di tipo esponenziale ( $N_{t+1} = N_t e^{rt}$ ), con un tasso di accrescimento  $r=0,21$ . A fine luglio - inizio agosto si raggiunge il picco, dopodiché a settembre si assiste ad un lento e progressivo declino della popolazione legato all’andamento climatico, con comparsa delle uova in diapausa embrionale, in seguito alla riduzione del numero di ore di luce (Figura 4).

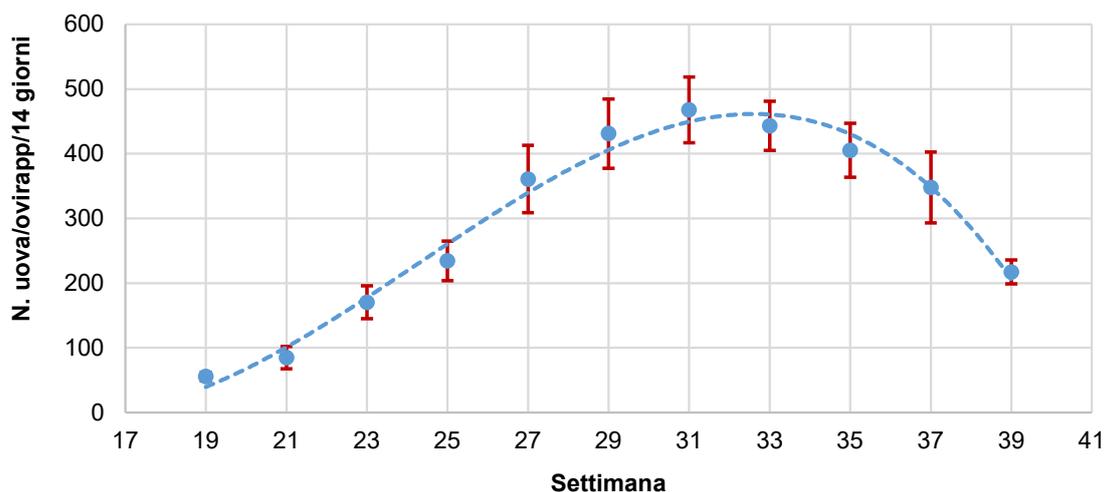


Figura 4. Andamento stagionale del numero medio uova/ovitrappola/14 giorni registrato nelle 755 ovitrappole attivate dal 2008 al 2020 nella RER (IC±95%)

L'andamento storico del numero medio di uova raccolte nei capoluoghi di provincia viene riportato in Figura 5. La dinamica di popolazione appare abbastanza costante dal 2008 al 2014, con una media stagionale pari a 232,39 uova/ovitrappola/14 gg (IC 95%  $\pm 22,77$ ); negli anni successivi si assiste ad un incremento significativo della popolazione con una media che nel periodo 2015-2020 sale a 422,34  $\pm 60,91$  uova/ovitrap/14 gg. Al momento non sono chiare le cause di questo incremento di popolazione e studi specifici sono in corso.

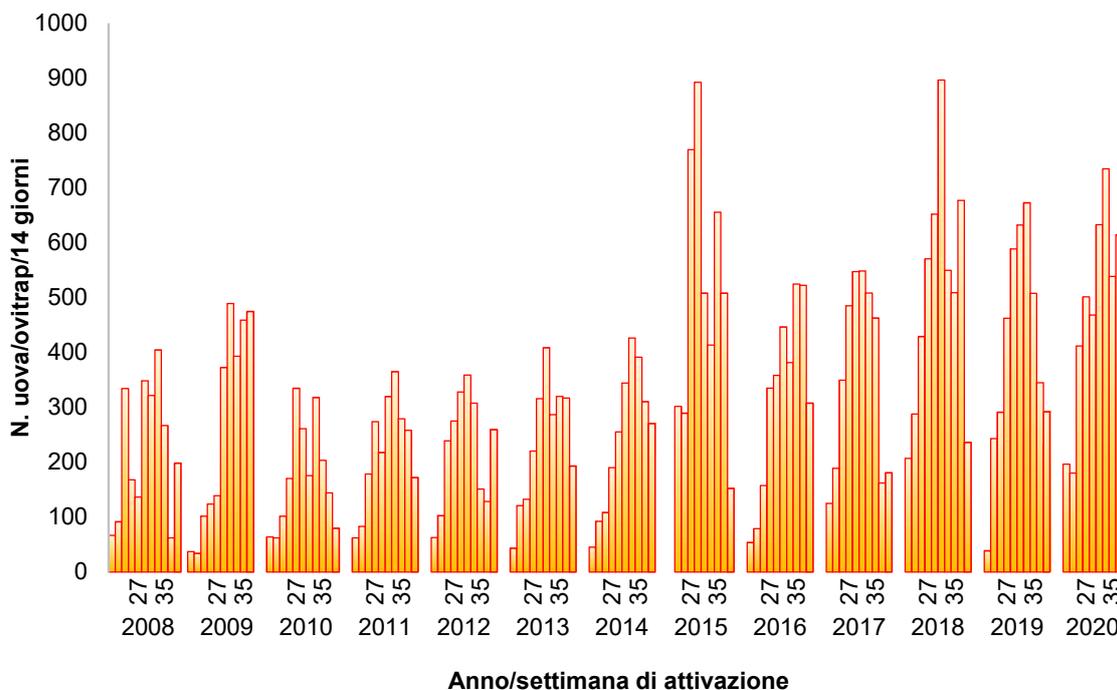


Figura 5. Andamento storico della media di uova raccolte nei capoluoghi di provincia in Emilia-Romagna dal 2008 al 2020

## Soglie di rischio epidemico

Uno degli aspetti più interessanti degli studi condotti nell'ambito del Piano Regionale di sorveglianza e controllo delle Arbovirosi (PRA) è stata la definizione delle soglie di rischio in funzione del numero di uova di *Ae. albopictus* raccolte con il sistema regionale di monitoraggio (17).

Le soglie di rischio sono state definite attraverso l'equazione di McDonald (18), che lega i diversi parametri del vettore (capacità vettoriale, tasso di riproduzione, grado di antropofilia, longevità, numero di punture) e del patogeno (livello di viremia, periodo di incubazione nel vettore), per stimare il tasso di crescita della malattia  $R_0$  (numero di casi secondari che si originano dal caso primario in una popolazione suscettibile):

$$R_0 = (SF * X_v * (a \cdot S_m \cdot V \cdot S_v \cdot \pi)) / (-\log_e p)$$

dove:

- $SF$  è il numero di punture/uomo/giorno calcolato in base al numero di uova raccolte
- $a$  corrisponde a  $h/GC$ , dove  $GC$  è la durata in giorni del ciclo gonotrofico calcolato in base al modello proposto da Vallorani *et al.* (2015) (19) e  $h$  è la proporzione di femmine di *Ae. albopictus* che effettua il pasto di sangue sull'uomo (20));
- $X_V$  è un fattore di correzione della capacità vettoriale calcolato da Carrieri *et al.* (2012) (21);
- $Sm$  è la competenza vettoriale di *Ae. albopictus* ai diversi arbovirus. Sono attualmente considerati i seguenti valori:  $Sm = 0,24$  per il ceppo non mutato di CHIKV e  $Sm = 0,80$  per il ceppo mutato CHIK A226V.  $Sm$  varia da 0,08 a 0,43 per i quattro sierotipi di DENV. Per ZIKV abbiamo usato  $Sm = 0,21$  ottenuta come media di diversi studi condotti negli ultimi anni (22, 23, 24, 25, 26, 27);
- $V$  è il periodo di viremia nell'uomo che varia da  $1/V = 0,17$  per CHIKV,  $1/V = 0,25$  per DENV e  $1/V = 0,22$  per ZIKV (28);
- $S_V$  è la proporzione di popolazione umana suscettibile all'infezione; si considera  $S_V = 1$ ;
- $p$  è la percentuale di sopravvivenza giornaliera delle femmine di *Ae. albopictus*;
- $i$  è la durata del ciclo estrinseco del virus (EIP) in *Ae. albopictus*. EIP dipende dalla temperatura e per calcolarlo è stata utilizzata l'equazione proposta da Johansson *et al.* (2014) (29).

Alcuni parametri dell'equazione di  $R_0$  sono stati definiti attraverso studi specifici condotti nei nostri ambienti nell'ambito del PRA ( $SF$ ,  $P$ ,  $X_V$ ), mentre altri parametri sono stati ricavati dalla bibliografia. Il numero di punture/uomo è stato calcolato attraverso l'equazione che lega il numero di uova raccolte con le ovitracce e il numero di punture ricevute in 15 minuti di esposizione nel periodo di massima attività del vettore. L'equazione è stata definita grazie ad uno studio specifico condotto a Bologna nel 2011 in un'area di 11 km<sup>2</sup> dove sono state attivate da fine maggio ad inizio ottobre 16 ovitracce distribuite omogeneamente sul territorio e sono state svolte in 16 stazioni fisse 3 sessioni di catture di 15 minuti di femmine pungenti di *Ae. albopictus* (HLC) ogni 14 giorni (15).

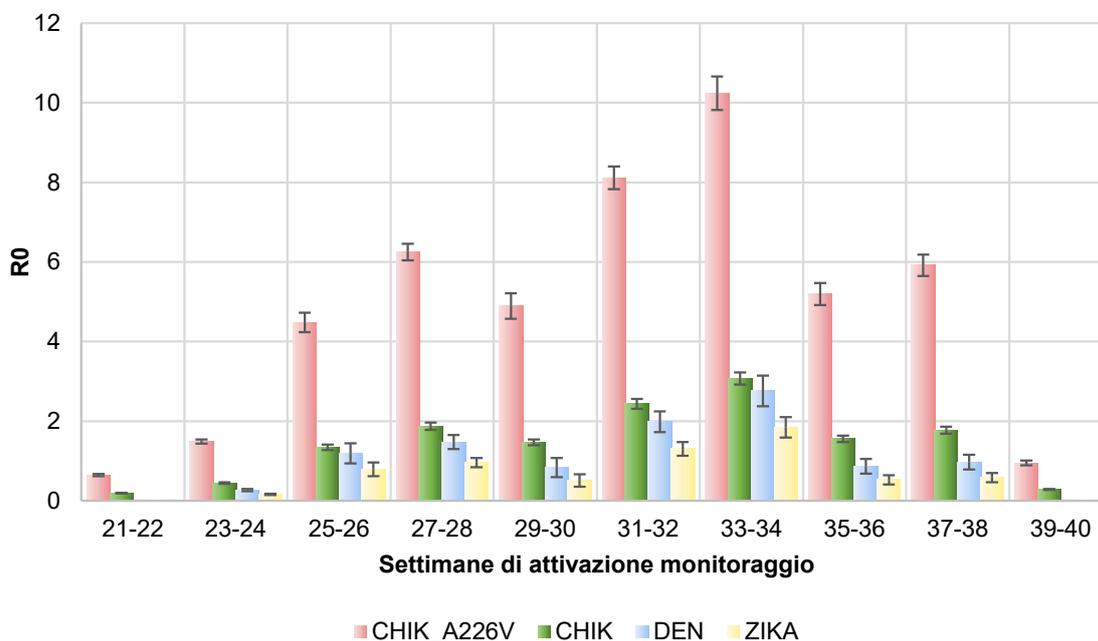
Vi sono diversi fattori ambientali, socioeconomici e comportamentali dei cittadini che influenzano l'esposizione alle punture. Per superare queste difficoltà è stato introdotto un fattore di correzione  $X_V$  nell'equazione di McDonald, che rappresenta la proporzione di punture realmente infettive.  $X_V$  è stato calcolato utilizzando i dati di  $R_0$  e di densità di femmine pungenti (stimato con HLC) raccolti durante l'epidemia del 2007 a Castiglione di Cervia e di Ravenna.

Uno dei parametri più importanti per valutare il rischio epidemico da arbovirus è la sopravvivenza delle femmine vettrici e la determinazione della percentuale di femmine pluripare (che hanno fatto più cicli gonotrofici). Durante la stagione estiva 2011 è stato analizzato lo stato fisiologico delle femmine di *Ae. albopictus* attraverso l'esame microscopico degli ovari e l'osservazione delle tracheole ovariche. Dalla percentuale di femmine pluripare è stato possibile ricavare attraverso la formula di Davidson (1954) (30) la probabilità di sopravvivenza quotidiana "P" delle femmine (31).

In base all'equazione di McDonald è possibile stimare il rischio di trasmissione durante la stagione estiva in funzione della temperatura e del numero di uova raccolte dal monitoraggio regionale (Figura 6).

L'analisi dei dati raccolti dal 2008 al 2020 evidenzia che il rischio di diffusione di arbovirus da parte di *Ae. albopictus* cresce gradualmente durante la stagione estiva a seguito dell'incremento sia della temperatura media che della densità di popolazione del vettore, raggiungendo il picco massimo nel mese di agosto (Figura 6).

Per gli arbovirus più diffusi a livello mondiale e per i quali la probabilità di introduzioni accidentali in Emilia-Romagna è maggiore (CHIK e DEN) il rischio è, per gran parte dell'estate, medio-basso ( $R_0 < 2$ ) e solo nel periodo compreso dalla 31<sup>a</sup> alla 34<sup>a</sup> settimana raggiunge valori  $2 < R_0 < 3$ .



**Figura 6. Andamento stagionale del potenziale tasso di accrescimento dei casi  $R_0$  stimato nel 2020 in base ai dati di monitoraggio di *Aedes albopictus* ( $IC \pm 95\%$ )**

Per ZIKV che ha avuto una forte esplosione epidemica nel 2015-16 sostenuta da *Ae. aegypti*, il rischio di trasmissione da parte di *Ae. albopictus*, decisamente meno competente, appare molto basso per tutta la stagione di sviluppo del vettore.

Per il ceppo mutato di chikungunya, CHIK A226V, responsabile dell'epidemia del 2007 in Romagna, il rischio appare molto alto in tutta la Regione e per gran parte del periodo estivo (dalla 25<sup>a</sup> alla 38<sup>a</sup> settimana).

Dai dati raccolti in questi anni è evidente che il rischio di trasmissione di CHIKV e DENV in Emilia-Romagna da parte di *Ae. albopictus* non è trascurabile.

## Analisi spaziale dei dati di monitoraggio

I dati validati di monitoraggio vengono anche utilizzati per creare mappe mensili di interpolazione della densità di *Ae. albopictus* con una risoluzione a 50 metri. L'analisi spaziale viene realizzata applicando due metodi di interpolazione: il metodo deterministico IDW (*Inverse Distance Weighted*) e, se significativo dal punto di vista geostatistico, il metodo stocastico Kriging (Figura 7).

Le mappe ricavate vengono messe a disposizione dei Comuni per indirizzare al meglio le risorse e intensificare le attività di lotta nelle aree a maggiore densità (aree *hot spots*) e dal 2020 sono consultabili nel sito <https://www.zanzaratigreonline.it/it/monitoraggio/mappe-comunali>.

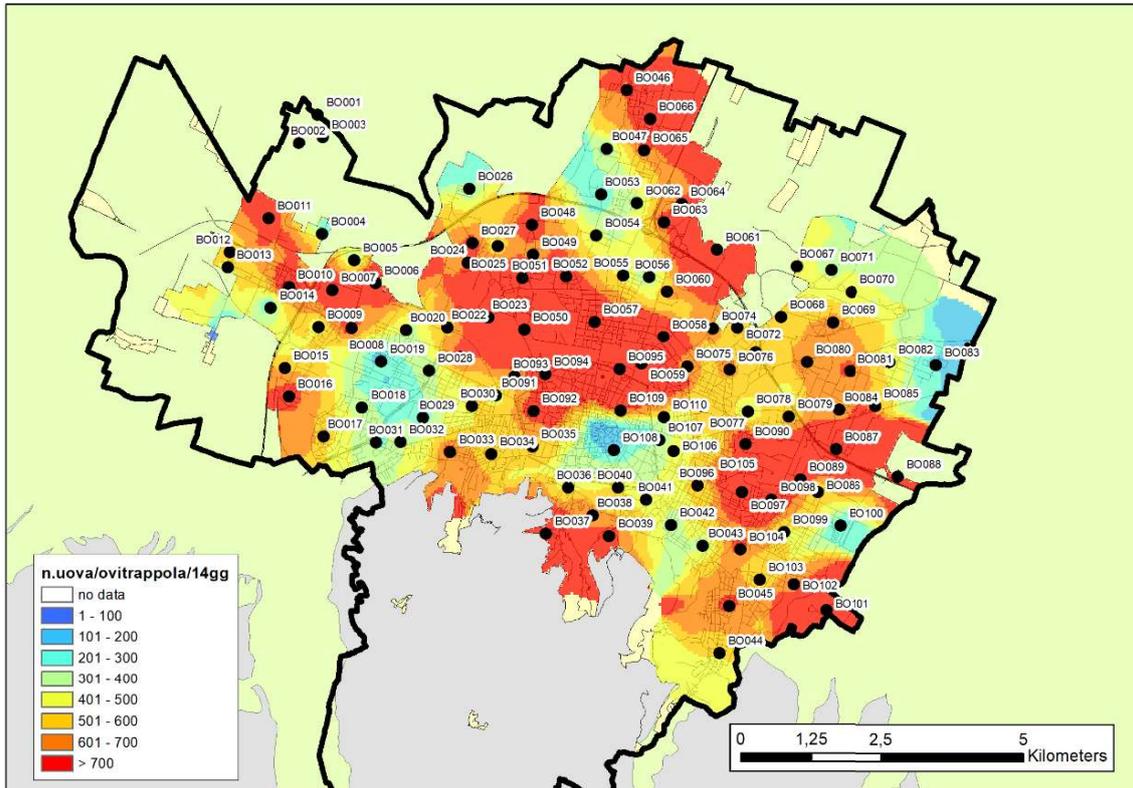


Figura 7. Esempio di una mappa di interpolazione IDW, Bologna, agosto 2020

## Azioni a seguito del rilevamento dei casi importati di malattia a trasmissione vettoriale

In presenza di casi importati di malattia trasmessa da zanzara tigre, nel periodo di attività stagionale del vettore, viene attivato, entro 24 ore dalla segnalazione, un protocollo straordinario che prevede una disinfestazione articolata in tre fasi che devono essere condotte in modo sinergico: trattamento adulticida, trattamento larvicida, rimozione dei focolai larvali, la cui successione ottimale è la seguente:

- adulticidi in orario notturno in aree pubbliche per tre notti consecutive;
- adulticidi, larvicidi e rimozione dei focolai in aree private (porta-porta);
- contestuale trattamento larvicida nelle tombinature pubbliche.

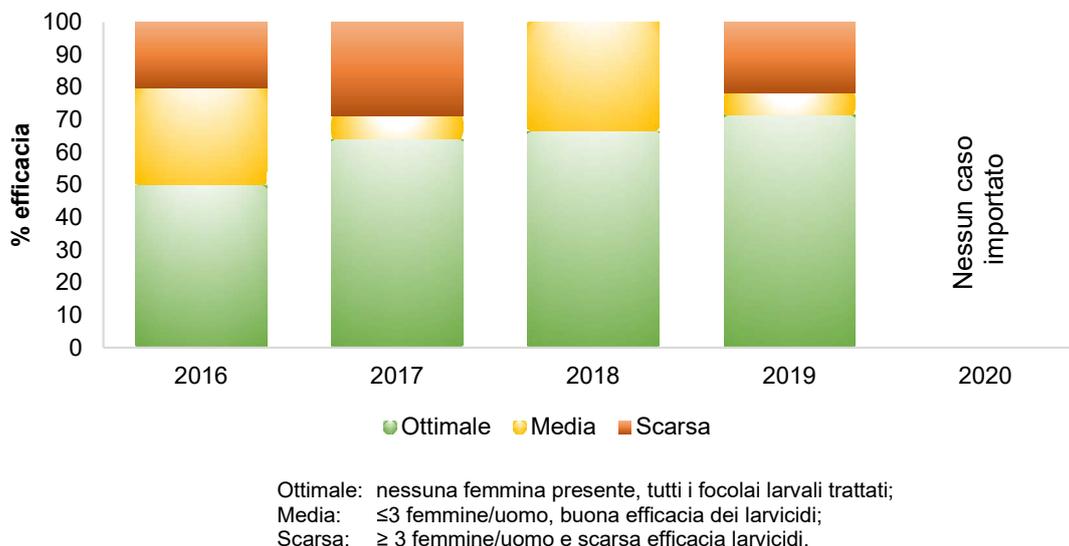
L'area da disinfestare, in caso di singola segnalazione, corrisponde, di norma, a un cerchio di raggio pari a 100 m dall'abitazione ed eventualmente da altri luoghi dove il soggetto ammalato ha soggiornato. In aree a scarsa densità abitativa la zona da disinfestare va ampliata a un cerchio di raggio 200 m. In caso di cluster la dimensione dell'area in cui applicare le misure straordinarie è definita da un raggio di 300 m.

Lo scopo è impedire che *Ae. albopictus* avvii una trasmissione locale del virus innescando un evento epidemico. Nell'ambito delle attività svolte è prevista anche una verifica di efficacia dei trattamenti condotti. Nei giorni immediatamente successivi agli interventi di disinfestazione

straordinaria, svolti a cura di ASL e Comune interessati, gli entomologi incaricati dalla Regione verificano l'efficacia degli interventi di lotta e l'eventuale rischio sanitario residuo a valle dei trattamenti. In caso di non conformità si chiede che i trattamenti vengano ripetuti tempestivamente.

Nell'indagine entomologica vengono realizzati sopralluoghi nel 10% dei giardini privati trattati (scelti con osservazione da esterno per la presenza di ambienti favorevoli alle zanzare) per verificare la presenza residua di adulti e di focolai di sviluppo larvale attivi. All'interno dell'area trattata vengono individuate tre aree ombreggiate dove svolgere le catture di femmine adulte (*Human Landing Catch*, HLC) attraverso un aspiratore elettrico. Gli adulti eventualmente raccolti durante le ispezioni, vengono mantenuti in catena del freddo, e inviati al laboratorio presso la sede territoriale di Reggio Emilia dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Lombardia ed Emilia Romagna (IZSLER RE) per le analisi virologiche del caso.

La maggior parte dei controlli di qualità realizzati dal 2016 ha dato un esito ottimale e in nessun caso è stata evidenziata la circolazione virale dopo i trattamenti. Negli anni si è assistito ad un graduale miglioramento delle attività di lotta attuate dalle Amministrazioni Locali, quelle con un esito ottimale dei controlli (assenza di focolai larvali e di femmine di *Ae. albopictus*) sono passate dal 50% del 2016 al 71% del 2019 (nel 2020 non sono stati registrati casi di malattia importati) (Figura 8).



**Figura 8. Efficacia delle attività di lotta straordinaria nelle aree riferite ai casi importati di chikungunya, dengue e Zika. Nel 2020 i casi importati si sono registrati al di fuori del periodo di sorveglianza definito dal piano arbovirosi**

## Indagini entomologiche di supporto scientifico

Per studiare le caratteristiche ecologiche della zanzara tigre sono state realizzate indagini entomologiche nelle principali aree urbane regionali col supporto del Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali (2008). Lo studio è stato realizzato dal 2008 al 2015 in otto capoluoghi di provincia, attraverso sopralluoghi e campionamenti larvali in tutti i potenziali

luoghi di sviluppo presenti in area privata e pubblica. Nella Tabella 2 vengono riportati i dati descrittivi dello studio.

**Tabella 2. Dati descrittivi delle indagini entomologiche condotte dal 2008 al 2015 in Emilia-Romagna**

Anno di studio	Città	Area di studio (ha)	N. civici nell'area di studio	Civici ispezionati		N. tombini campionati		
				N.	% sul totale	privati	pubblici	totale
2008	Ravenna	821,0	15.468	706	4,56%	1.526	822	2.348
	Cesena	1.111,0	14.119	695	4,92%	1.634	633	2.267
	Forlì	1.367,0	21.150	719	3,40%	2.130	502	2.632
	Rimini	1.699,0	26.699	799	2,99%	1.584	1.330	2.914
2011	Bologna	971,6	6.209	396	6,38%	1.876	216	2.092
2014	Ferrara	688,0	11.883	460	3,87%	671	512	1.183
	Parma	768,1	9.853	463	4,70%	1.002	753	1.755
2015	Piacenza	752,0	12.144	312	2,57%	569	707	1.276
<b>Totale</b>		<b>8.177,7</b>	<b>117.525</b>	<b>4.550</b>	<b>3,87%</b>	<b>10.992</b>	<b>5.475</b>	<b>16.467</b>

La densità di larve di IV età ( $L_4$ ) e pupe (P) rilevata nello studio è risultata variare da  $8,48 \pm 7,65$  ( $L_4+P$ )/contenitore nei micro-focolai rilevati in area privata (bidoni, sottovasi, secchi, ecc.) a  $87,42 \pm 83,64$  ( $L_4+P$ )/tombino nei tombini infestati presenti nei giardini e nei cortili privati a  $119,86 \pm 49,67$  ( $L_4+P$ )/tombino nelle caditoie stradali in area pubblica. Si può stimare che circa il 98% delle  $L_4$  e pupe si sviluppa nei tombini pubblici e privati che costituiscono quindi la principale tipologia di focolaio di sviluppo larvale negli ambienti urbani.

La densità per ettaro dei focolai di sviluppo larvale è riportata nella Tabella 3. Si osservano differenze sostanziali tra le aree campionate. Il numero di tombini con acqua (quindi potenziali focolai di *Ae. albopictus*) presenti in area privata è nettamente superiore (2,5 volte) a quello delle caditoie stradali in area pubblica, ma la densità di ( $L_4+P$ )/tombino è inferiore (i tombini in area privata sono generalmente più piccoli). Fa eccezione Bologna dove nelle aree private si rileva una densità minore di tombini e di microfocolai (maggiore estensione delle aree condominiali e minore di giardini privati) e in area pubblica la densità di caditoie stradali è maggiore. A Cesena si è osservata la minor densità di tombini pubblici con acqua, mentre nelle province romagnole si osserva una maggiore presenza di focolai in area privata.

**Tabella 3. Risultati delle indagini entomologiche condotte nei capoluoghi di Provincia dal 2008 al 2015**

Anno di studio	Area	N. tombini privati con acqua/Ha	N. micro-focolai potenziali/Ha	N. caditoie stradali pubbliche con acqua/Ha
2008	Cesena	16,34 ± 6,28	16,10 ± 8,23	3,02 ± 0,80
	Forlì	28,56 ± 11,38	22,96 ± 18,11	7,61 ± 3,20
	Ravenna	30,42 ± 9,56	19,36 ± 4,00	N.D.
	Rimini	20,29 ± 7,58	15,72 ± 3,90	9,80 ± 0,62
2011	Bologna	13,46 ± 3,99	3,68 ± 0,82	13,46 ± 5,14
2014	Ferrara	23,10 ± 22,42	10,77 ± 16,71	10,21 ± 4,53
	Parma	18,68 ± 22,47	6,34 ± 11,53	5,88 ± 3,23
2015	Piacenza	15,38 ± 11,09	7,68 ± 18,11	9,09 ± 3,15
<b>Totale</b>		<b>20,43 ± 16,78</b>	<b>8,90 ± 15,35</b>	<b>8,47 ± 4,04</b>

La capacità portante, intesa come stima della popolazione massima di zanzara tigre che l'ambiente può sostenere in assenza di attività di contenimento, è stata calcolata moltiplicando il numero di focolai potenziali/ha per la densità larvale massima rilevata in ogni tipologia di focolaio. Ogni area urbana ha una sua capacità portante che dipende dalle condizioni ambientali e dai comportamenti dei cittadini, pertanto la valutazione delle attività di contenimento in base al confronto dei dati di monitoraggio della popolazione di zanzare deve tener conto di queste differenze. La capacità portante sul territorio regionale è risultata variare da 2000 (L<sub>4</sub>+P)/ha di Cesena a oltre 3500 (L<sub>4</sub>+P)/ha di Ravenna e Forlì (Figura 9).

Questo studio ha fornito indicazioni utili sul contributo alla popolazione adulta di zanzara tigre dei diversi focolai di sviluppo larvale presenti nelle aree urbane. In generale si è osservato che i tombini privati contribuiscono nel range 40-75% alla popolazione complessiva. Per poter incidere sulla densità di popolazione occorre quindi intensificare le attività di contenimento in area privata.

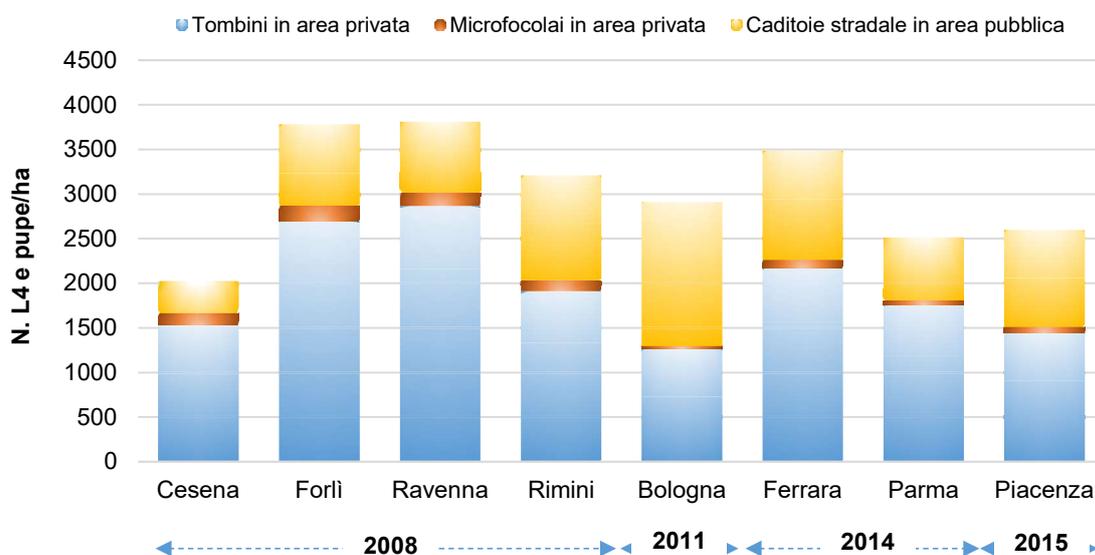


Figura 9. Capacità portante stimata attraverso studi specifici nei capoluoghi di provincia della Regione Emilia-Romagna dal 2008 al 2015

## Conclusioni

Le attività entomologiche condotte dall'inizio della colonizzazione di *Ae. albopictus* hanno consentito di impostare il Piano Regionale Arbovirosi sulla base di evidenze scientifiche e migliorare le attività di sorveglianza e di lotta necessarie per contenere i rischi di trasmissione locale di arbovirus e il disagio causato dalle punture.

I dati di monitoraggio indicano che è in atto un sensibile incremento della popolazione di zanzara tigre da seguire con attenzione nei prossimi anni.

Recentemente in alcune zone d'Italia sono state rinvenute due specie esotiche (*Aedes japonicus* e *Aedes koreicus*) che il sistema di sorveglianza regionale conferma invece non essere presenti in Emilia-Romagna.

La sorveglianza entomologica dovrà comunque continuare a monitorare il rischio di introduzione di nuove specie che potrebbero trovare nei nostri ambienti le condizioni necessarie

per lo sviluppo e la sopravvivenza invernale. Tra queste particolare attenzione va posta a *Ae. aegypti*, data la sua competenza vettoriale nella trasmissione della dengue.

## Bibliografia

1. Carrieri M. Monitoraggio mediante ovitrapole: evoluzione dell'infestazione in Romagna. In: Angelini P, Mignani R, Mascali Zeo S (Ed.). *Atti del Convegno Verso una strategia di lotta integrata alla zanzara tigre*. Cesena 23 febbraio 2006. Collana Contributi della Regione Emilia-Romagna n. 50 del 2007. Bologna: Centro Stampa Giunta, Regione Emilia-Romagna; 2007. p. 19-41. Disponibile all'indirizzo: <https://salute.regione.emilia-romagna.it/normativa-e-documentazione/rapporti/contributi/contributi-n.-50-2007>; ultima consultazione 20/6/2022.
2. Angelini P, Finarelli AC, Silvi G, Borriani BM, Frasca G, Mattivi A, Massimiliani E, Po C, Angelini R, Venturelli C, Macini P. L'emergenza chikungunya in Emilia-Romagna: apprendere dall'esperienza. *Epidemiol Prev* 2008;32(4-5):258-63.
3. Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lombardia ed Emilia-Romagna. Sottoprogetto 3 - Infezione da virus Chikungunya: caratteristiche epidemiologiche e cliniche. In: *Zoonosi e Infezioni virali esotiche: fronteggiare le emergenze attraverso un approccio integrato tra medicina umana e veterinaria*. Programma strategico di Ricerca finalizzata RFPS-2007-7-639191 del Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali; 2008.
4. Hawley WA. The biology of *Aedes albopictus*. *J Am Mosq Control Assoc* 1988;1:1-39.
5. Taylor LR. Aggregation variance and the mean. *Nature* 1961;189:732-5.
6. Taylor LR. Assessing and interpreting the spatial distributions of insect populations. *Annu Rev Entomol* 1984;29:321-57.
7. Kuno E. Sampling and analysis of insect populations. *Annu Rev Entomol* 1991;36:285-304.
8. Southwood TRE, Henderson PA. The sampling programme and the measurement of description and dispersion. In: *Ecological methods*. Oxford: Blackwell Science Ltd.; 2000. p. 7-62.
9. Mogi M, Choochote C, Khamboonruang C, and Suwanpanit P. Applicability of presence, absence and sequential sampling for ovitrap surveillance of *Aedes* (Diptera: Culicidae) in Chiang Mai, northern Thailand. *J Med Entomol* 1990;27:509-14.
10. Buntin GD. Developing a primary sampling program. In: Pedigo LP, Buntin GD (Ed.). *Handbook of Sampling Methods for Arthropods in Agriculture*. Boca Raton, FL: CRC Press, Inc.; 1994. p. 99-115.
11. Albieri A, Carrieri M, Angelini P, Baldacchini F, Venturelli C, Mascali Zeo S, Bellini R. Quantitative monitoring of *Aedes albopictus* in Emilia-Romagna, Northern Italy: cluster investigation and geostatistical analysis. *Bulletin of Insectology* 2010;63(2):209-16.
12. Carrieri M, Albieri A, Angelini P, Baldacchini F, Venturelli C, Mascali Zeo S, Bellini R. Surveillance of the chikungunya vector *Aedes albopictus* (Skuse) in Emilia-Romagna (northern Italy): organizational and technical aspects of a large scale monitoring system. *J Vector Ecol* 2011;36(1):108-16.
13. Craig RW, Long SA, Russell RC, Ritchie SA. Optimizing ovitrap use for *Aedes aegypti* in Cairns, Queensland, Australia. *J Am Mosq Contr Assoc* 2006;22:635-40.
14. Carrieri M, Albieri A, Urbanelli S, Bellini R. Quality control and data validation procedure in large-scale quantitative monitoring of mosquito density: the case of *Aedes albopictus* in Emilia-Romagna region, Italy. *Pathogens and Global Health* 2017;111(2). doi: 10.1080/20477724.2017.1292992.
15. Bellini R, Carrieri M. dengue, chikungunya e valutazione del rischio. *Ecoscienza* 2014;4(2):66-7.
16. Carrieri M, Albieri A, Gentili L, Bacchi M, Manzieri AM, Angelini P, Venturelli C, Matrangolo C, Leis M, Pezzi M, Rani M, Iezzi RS, Melotti M, Casari A, Bellini R. Egg data validation in quantitative monitoring of *Aedes albopictus* in Emilia-Romagna region, Italy. *Pathogens and Global Health* 2020;115(2). doi: 10.1080/20477724.2020.1866375.

17. Carrieri M, Angelini P, Venturelli C, Maccagnani B, Bellini R. *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) population size survey in the 2007 chikungunya outbreak area in Italy. I. Characterization of breeding sites and evaluation of sampling methodologies. *J Med Entomol* 2011;48(6):1214-25. doi: <http://dx.doi.org/10.1603/ME10230>.
18. Bølle PY, Thomas G, Vergu E, Renault P, Valleron AJ, Flahault A. Investigating transmission in a two-wave epidemic of chikungunya fever, Reunion Island. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 2008;8(2):207-17.
19. Vallorani R, Angelini P, Bellini R, Carrieri C, Crisci A, Mascali Zeo S, Messeri G, Venturelli C. Temperature characterization of different urban microhabitats of *Aedes albopictus* (Diptera Culicidae) in Central-Northern Italy. *Environ Entomol* 2015;1-11. doi: 10.1093/ee/nvv067.
20. Valerio L, Marini F, Bongiorno G, Facchinelli L, Pombi M, Caputo B, Maroli M, Della Torre A. Host-feeding patterns of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in urban and rural contexts within Rome Province, Italy. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 2010;10(3):291-4.
21. Carrieri M, Angelini P, Venturelli C, Maccagnani B, Bellini R. *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) population size survey in the 2007 chikungunya outbreak area in Italy. II: Estimating epidemic thresholds. *J Med Entomol* 2012;49(2):388-99. doi: <http://dx.doi.org/10.1603/ME10259>.
22. Vazeille M, Moutailler S, Coudrier D, Rousseaux C, Khun H, Huerre M, Thiria J, Dehecq JS, Fontenille D, Schuffenecker I, Despres P, Failloux AB. Two chikungunya isolates from the outbreak of La Reunion (Indian Ocean) exhibit different patterns of infection in the mosquito, *Aedes albopictus*. *PLoS ONE* 2007;2(11):e1168. doi:10.1371:1-9.
23. Whitehorn J, Kien DT, Nguyen NM, Nguyen HL, Kyrillos PP, Carrington LB, Tran CN, Quyen NT, Thi LV, Le Thi D, Truong NT, Luong TT, Nguyen CV, Wills B, Wolbers M, Simmons CP. Comparative susceptibility of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* to dengue virus infection after feeding on blood of viremic humans: implications for public health. *J Infect Dis* 2015;212(8):1182-90. doi: 10.1093/infdis/jiv173.
24. Di Luca M, Severini F, Toma L, Boccolini D, Romi R, Remoli ME, Sabbatucci M, Rizzo C, Venturi G, Rezza G, Fortuna C. Experimental studies of susceptibility of Italian *Aedes albopictus* to Zika virus. *Euro Surveill* 2016;21(18):pii=30223. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.18.30223>.
25. Heitmann A, Jansen S, Lühken R, Leggewie M, Badusche M, Pluskota B, Becker N, Vapalahti O, Schmidt-Chanasit J, Tannich E. Experimental transmission of Zika virus by mosquitoes from central Europe. *Euro Surveill* 2017;22(2):pii=30437. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.2.30437>.
26. Hugo LE, Stassen L, La J, Gosden E, Ekwudu O, Winterford C, Viennet E, Faddy HM, Devine GJ, Frentiu FD. Vector competence of Australian *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* for an epidemic strain of Zika virus. *PLoS Negl Trop Dis* 2019;13(4):e0007281. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007281>.
27. McKenzie BA, Wilson AE, Zohdy S. *Aedes albopictus* is a competent vector of Zika virus: A meta-analysis. *PLoS ONE* 2019;14(5):e0216794. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216794>.
28. Gubler DJ, Suharyono W, Tan R, Abidin M, Sie A. Viraemia in patients with naturally acquired dengue infection. *Bull WHO* 1981;59(4): 623-30.
29. Johansson MA, Powers AM, Pesik N, Cohen NJ, Staples JE. Nowcasting the spread of chikungunya virus in the Americas. *PLoS ONE* 2014;9(8):e104915. doi:10.1371/journal.pone.0104915.
30. Davidson G. Estimation of the survival-rate of Anopheline mosquitoes in nature. *Nature* 1954;174:792-4.
31. Detinova TS. *Age-grouping methods in Diptera of medical importance with special reference to some vectors of malaria*. Geneva: World Health Organization; 1962.