



*Centro di Referenza Nazionale
per le malattie esotiche*

(Responsabile: Dott.ssa Rossella Lelli)

WEST NILE DISEASE (WND)

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

WEST NILE DISEASE (WND)

La West Nile disease (WND) è una zoonosi ad eziologia virale, trasmessa da zanzare, che causa forme di meningo-encefalite negli uccelli, sia selvatici che domestici, negli equidi e nell'uomo.

EZIOLOGIA

Il West Nile virus (WNV) appartiene alla famiglia Flaviviridae, genere Flavivirus, ed è compreso nel sierocomplex del virus della Encefalite Giapponese insieme a Murray Valley encephalitis (MVE), St. Louis encephalitis (SLE), Kunjin (KUN), Usutu (USU), Koutango (KOU), Cacipacore (CPC), Alfuy (ALF) e Yaounde (YAO) virus. Fatta eccezione per l'Usutu, i virus del sierocomplex non sono presenti né in Italia né in Europa. Il virus fu isolato per la prima volta nel 1937 in Uganda dal sangue di una donna con sintomatologia febbrile, proveniente dal distretto di West Nile (da cui il nome West Nile disease).

Caratteristiche biologiche del virus

Il WNV è un virus RNA a singolo filamento circondato da un capsidico proteico a simmetria icosaedrica con envelope.

L'analisi della sequenza nucleotidica degli isolati ha consentito di definirne le relazioni filogenetiche con conseguente raggruppamento dei ceppi in due *lineages*:

- *Lineage 1* è suddiviso in almeno 3 classi :
 - ▶ Classe A: ceppi provenienti dall'Europa, Africa, Medio Oriente e America;
 - ▶ Classe B: ceppi provenienti dall'Australia (Kunjin);
 - ▶ Classe C: ceppi provenienti dall'India.
- *Lineage 2* contiene il ceppo prototipo B 956 e altri ceppi isolati nell'Africa Subsahariana e in Madagascar. Virus appartenenti a questo *lineage* sono stati identificati anche in Ungheria.

Recentemente sono stati proposti altri 2 *lineages* per virus che presentano notevoli differenze genetiche con i ceppi dei *lineages* finora descritti:

- *Lineage 3*: comprende il ceppo virale isolato nella Repubblica Ceca nel 1997, in prossimità del confine con l'Austria, dal *Culex pipiens* chiamato Rabensburg virus;
- *Lineage 4* cui appartiene un unico virus isolato nel Caucaso.

Tutti gli isolati responsabili di gravi epidemie sono ascrivibili al *Lineage 1*; i virus appartenenti agli altri *Lineages*, al contrario, sono caratterizzati da scarsa patogenicità.

Le analisi filogenetiche effettuate utilizzando una sequenza nucleotidica del gene codificante per la proteina E dei virus isolati in Italia nel 1998 e nel 2008 hanno permesso di rilevare un elevato grado di omologia (98.8%) tra i due virus che, loro volta, sono risultati simili a quelli circolanti da circa un decennio nel bacino del Mediterraneo ed in alcuni paesi africani ed entrambi ascrivibili al *Lineage 1*.

EPIDEMIOLOGIA

Storia e distribuzione geografica

Il West Nile virus è tra gli arbovirus maggiormente distribuiti nel mondo essendo presente in tutti i continenti ad eccezione dell'Antartide.

Dopo il primo isolamento in Uganda non vi sono state più segnalazioni fino al 1950, quando nel distretto sanitario di Sinbis in Egitto, il WNV è stato ritrovato nel sangue di tre bambini apparentemente sani.

Tra gli anni '60 e '80 il WNV è stato isolato da zanzare, uccelli e mammiferi in diversi paesi dell'Europa (Spagna, Portogallo, Romania, Repubblica Ceca, Slovacchia, Polonia, Russia), come in Africa, Medio Oriente ed India.

Durante tale periodo in Africa e in India si verificarono diverse epidemie, anche di notevole entità. La più grave, con circa 3000 casi clinici nell'uomo, risale al 1974 e si verificò in Sudafrica.

Nei paesi del Bacino del Mediterraneo dagli anni '90 (Figura 1) il numero delle epidemie e la gravità della sintomatologia hanno registrato un costante aumento.

Anno	Paesi e specie colpite (U-uomo; C-cavallo)		
	Africa	Europa	Asia
1994	Algeria (U)		
1995			
1996	Marocco (C)	Romania (U)	
1997	Tunisia (U)	Romania (U)	Rep. Ceca (U)
1998	Repubblica Democratica del Congo (U)		Italia (C) Israele (C)
1999		Russia (U)	
2000		Francia (C)	Israele (U+C)
2001			
2002			
2003	Marocco (C), Tunisia (U)		Francia (C+U)
2004		Francia (C)	
2005			
2006		Francia (C)	
2007			Emirati Arabi (C)
2008		Romania (U)	Italia (U+C), Ungheria (U)

Figura 1 Focolai in Africa, Europa e Asia dal 1990 (U = uomo; C= cavallo)

Al 1999 risale la prima comparsa del virus West Nile nel continente americano dove dalla città di New York il virus si è diffuso in tutti gli Stati Uniti interessando uomini e cavalli, ma causando anche grave sintomatologia e mortalità negli uccelli selvatici soprattutto corvidi.

Successivamente il virus si è diffuso progressivamente sia verso Nord, interessando il Canada, sia verso Sud raggiungendo il Messico, alcuni stati dell'America Centrale, la regione Caraibica e l'America Meridionale. Dal 2003 il WNV è considerato endemico nel Nord America.

Il primo focolaio italiano risale alla tarda estate del 1998 quando, in Toscana si verificarono alcuni casi di WND clinicamente manifesta in cavalli stabulati nell'area circostante il Padule di Fucecchio .

A distanza di 10 anni dalla prima notifica, nell'agosto 2008, la WND è ricomparsa in Italia nell'area del delta del Po interessando tre regioni: Emilia Romagna, Lombardia e Veneto. Come il ceppo del 1998 anche quello del 2008 non ha causato letalità significativa nei volatili, ma al contrario di quanto avvenne in Toscana, l'infezione è stata in grado di provocare la sintomatologia clinica, oltre che negli equidi (32 casi clinici e 5 morti), anche nell'uomo (9 casi di cui 4 con sintomatologia nervosa).

Regioni	Province	N. Focolai (1)	N. focolai con sintomi clinici (2)	N. equidi				% animali positivi (4/3)	% animali positivi con sintomi (5/4)	Tasso di letalità (%) (6/5)
				Testati (3)	Positivi (4)	Con segni clinici (5)	Morti (6)			
Emilia Romagna	Ferrara	64*	10	698	320 ^a	16	2	45.8%	5.0%	12.5%
	Ravenna	5*	0	59	10*	0	0	16.9%	0.0%	
	Bologna	23	4	448	128	6	1	28.6%	4.7%	16.7%
	Modena	17	1	241	33	1	0	13.7%	3.0%	0.0%
Veneto	Rovigo	77	1	278	161	1	0	57.9%	0.6%	0.0%
	Padova	21	1	92	37	1	0	40.2%	2.7%	0.0%
	Venezia	8	0	58	20	0	0	34.5%	0.0%	
Lombardia	Mantova	36	1	156	85	7	2	54.5%	8.2%	28.6%
Totale		251	18	2030	794	32	5	39.1%	4.0%	15.6%

*sono incluse 11 sieroconversioni nei cavalli sentinella in 7 aziende (Ferrara: 10 cavalli in 6 aziende; Ravenna: 1 cavallo in 1 azienda)

Figura 2 Numero di focolai sierologicamente positivi e casi confermati di equidi con sintomatologia neurologica nell'area sottoposta a sorveglianza (31/12/2008).

Sempre nel 2008 la WND è stata segnalata in Austria, dove il virus è stato isolato in uccelli selvatici ed in Ungheria e Romania dove sono stati segnalati casi nell'uomo. Nel luglio del 2009 l'infezione da WNV è comparsa di nuovo in Italia interessando le seguenti regioni: Emilia Romagna, Lombardia e Toscana. L'estensione dell'area interessata dal focolaio 2009 e la definizione dei limiti della zona con circolazione virale sono ancora in corso. La situazione aggiornata può essere visualizzata sul Bollettino epidemiologico 2009 pubblicato sul sito www.izs.it.

Dati i recenti focolai, è stato ipotizzato che i possibili turbamenti dell'ecosistema dell'Europa Meridionale legati ai cambiamenti climatici, potrebbero favorire la diffusione del WNV in altre aree dell'Europa in cui è nota la presenza di vettori competenti.

Modalità di trasmissione

Il WNV è mantenuto in natura da un ciclo primario di trasmissione zanzara-uccello-zanzara (ciclo endemico): le zanzare ornitofile adulte (vettori) si infettano pungendo uccelli viremici (ospiti amplificatori). Il WNV, una volta ingerito, è in grado di diffondere nell'organismo della zanzara, dove si moltiplica localizzandosi a livello delle ghiandole salivari per poi essere trasmesso all'ospite vertebrato. Il periodo di tempo che intercorre dall'assunzione del virus sino alla sua localizzazione nelle ghiandole salivari del vettore viene definito "periodo di incubazione estrinseca" ed identifica il periodo che trascorre tra il pasto infettante e il momento in cui la zanzara è di nuovo in grado di trasmettere il virus all'ospite vertebrato. Il ciclo secondario (ciclo epidemico) si manifesta quando, a causa di particolari condizioni ecologiche, ospiti accidentali, come il cavallo e l'uomo, entrano nel ciclo di trasmissione e sono interessati dall'infezione. In questo caso artropodi vettori, chiamati vettori ponte, sono capaci di trasmettere il virus ad ospiti diversi dai volatili come cavalli e uomini.

Sono considerati ospiti accidentali a fondo cieco l'uomo, gli equidi e altri mammiferi. In questi ospiti il virus, non raggiunge nel torrente circolatorio concentrazioni sufficientemente elevate ad infettare i vettori e, pertanto, il ciclo di trasmissione non riesce a perpetuarsi.

In Europa il ciclo di trasmissione del WNV può essere confinato in due principali ecosistemi: rurale (selvatico) che si istaura in prossimità delle zone umido-paludose tra uccelli selvatici e zanzare ornitofile e sinantropico/urbano che si istaura tra uccelli sinantropici o domestici e zanzare che possono effettuare il pasto di sangue sia sugli uccelli che sull'uomo.

I vettori

Una delle peculiarità di questo *Flavivirus* è la possibilità di essere trasmesso da differenti generi e specie di zanzare. Ad oggi la lista delle zanzare dalle quali il WNV è stato isolato comprende almeno 75 specie..

I principali vettori competenti sono alcune tra le specie di zanzare ornitofile, appartenenti al genere *Culex*, sempre strettamente associate alla trasmissione del WNV durante i focolai. In Europa il virus è stato isolato da 8 specie di zanzare; i principali vettori sono *Cx. pipiens* e *Cx. modestus*, *Coquillettidia richiardii*. In particolare *Cx. pipiens* è generalmente considerato il principale vettore di WNV in Europa e probabilmente la specie coinvolta nell'epidemia di Cerbaie-Fucecchio del 1998.

Le zanzare cessano la loro attività durante i mesi freddi, tuttavia è stata dimostrata la capacità del virus di sopravvivere, durante questo periodo, nelle zanzare infette che superano l'inverno in luoghi chiusi.

Animali recettivi

La presenza di anticorpi specifici nei confronti del West Nile virus è stata rilevata negli uomini, in un'ampia varietà di specie di uccelli domestici e selvatici, in numerosi mammiferi selvatici e domestici, ed anche negli anfibi e nei rettili. L'ampio spettro di animali interessati testimonia la grande capacità del virus di infettare un elevato numero di specie. Tuttavia i vertebrati che rivestono un ruolo importante per la malattia sono:

gli uccelli, principali ospiti vertebrati del WNV. Numerose sono le specie di uccelli che possono essere infettate dal virus per esempio negli Stati Uniti è stato rilevato in almeno 317 specie di uccelli. Alcuni studi sperimentali e le

osservazioni di campo hanno identificato le specie appartenenti agli ordini dei Passeriformi, dei Caradriformi e Strigiformi come i principali ospiti reservoir ed amplificatori del virus in considerazione dei livelli di viremia elevati e persistenti che si sviluppano in queste specie. Una delle ipotesi che spiegherebbe il verificarsi di sporadici focolai di WNV in Europa, anche in aree distanti tra di loro, si baserebbe sull'introduzione accidentale e ripetuta nel tempo del virus attraverso gli uccelli migratori. Durante lo svernamento in Africa gli uccelli possono infettarsi e, durante la migrazione primaverile, nei mesi di aprile-maggio, trasportare il virus verso Nord in Europa, dove trasmettono l'infezione alla popolazione autoctona dei vettori in grado, a loro volta, di trasferire il virus agli uccelli di specie stanziali (ospiti amplificatori). Tutto questo si realizzerebbe nel giro di 2-3 mesi. Una volta stabilito il ciclo endemico e di amplificazione tra la popolazione di uccelli selvatici e di vettori, l'infezione può accidentalmente trasmettersi attraverso la puntura delle zanzare anche a mammiferi presenti nella stessa area geografica, incluso l'uomo ed il cavallo, dove l'infezione si rende clinicamente manifesta. L'interessamento, quindi, delle specie di mammiferi avviene tardivamente nel corso della stagione epidemica, e ciò spiega il motivo per cui in Europa i focolai clinici di WND si evidenziano tra luglio e settembre.

gli equidi e l'uomo, ospiti terminali dell'infezione o a fondo cieco epidemiologico in quanto non sviluppano una viremia tale da infettare i vettori e contribuire così alla prosecuzione del ciclo di trasmissione. La sintomatologia clinica, riconducibile a WNV, è riscontrabile nell'uomo, negli equidi e negli uccelli anche se, generalmente, la maggior parte delle infezioni decorre in modo asintomatico.

Morbilità e mortalità/letalità

Uccelli

Fino al 1997, il virus era considerato non patogeno per gli uccelli; nel '98 in Israele, però, alcune specie di uccelli migratori (cicogne) e domestici (oche) presentarono sintomatologia nervosa e mortalità. Successivamente, durante l'epidemia americana, il virus si dimostrò altamente patogeno per alcuni uccelli, in particolare per i corvidi.

Equidi

Una significativa morbilità è stata riportata negli equidi (cavalli, asini e muli). Nei cavalli è stato stimato che circa il 10% degli animali infetti sviluppa la forma clinica. Le percentuali di letalità negli equidi sono state stimate in America pari al 38,3%; durante l'epidemia del 2000 in Francia è stata pari al 57%; in Italia, durante l'epidemia del 1998, pari al 42% e nel 2008 è stata del 6%, variabile tra 0% e 28,6% a seconda delle province interessate.

Uomo

Sulla base dei dati raccolti sull'uomo, negli Stati Uniti fra il 1999 ed il 2002, la letalità riscontrata è stata del 6,1%, a fronte di una percentuale del 21% di soggetti con sintomatologia clinica.

DIAGNOSI

Diagnosi Clinica

Uccelli

Negli uccelli il periodo di incubazione è di 3-4 giorni e la malattia si presenta solitamente in forma asintomatica o subclinica. Qualora compaiano sintomi clinici, essi sono tipici della forma neurologica caratterizzata da:

- atassia,
- paralisi,
- movimenti di maneggio,
- pedalamiento,
- torcicollo,
- opistotono,
- incoordinazione motoria,
- depressione,
- letargia,
- penne arruffate,
- perdita di peso.

La morte in genere sopraggiunge a distanza di 24 ore dalla comparsa dei sintomi nervosi.

Equidi

Sebbene gli uomini e gli equidi siano sensibili all'infezione da WNV, la maggior parte dei casi decorre in modo asintomatico. Tuttavia nei focolai osservati negli ultimi anni, è stato registrato un aumento della percentuale di soggetti con sintomatologia.

Negli equidi il periodo di incubazione è di 3-15 gg. Circa il 10% degli equidi infetti manifesta sintomatologia nervosa.

I sintomi clinici sono:

- febbre,
- atassia,

- deficit propriocettivi,
- paralisi di uno o più arti con la conseguente impossibilità dell'animale a mantenere la stazione quadrupedale,
- fascicolazioni cutanee,
- tremori e rigidità muscolare e talvolta dismetria,
- sonnolenza, ipereccitabilità o aggressività,
- iperestesia,
- paresi dei muscoli facciali, della lingua e disfagia.

I segni clinici possono risolversi con guarigione in 5-15 gg oppure progredire rapidamente con morte dei soggetti. In alcuni casi si preferisce sottoporli ad eutanasia.

Nel focolaio verificatosi in Italia nel 1998, 14 cavalli furono interessati da sintomatologia clinica riferibile a West Nile. Nel focolaio del 2008 sono stati colpiti da sintomatologia clinica 32 equidi.

Uomo

La maggior parte delle persone infettate con il WNV non sviluppa segni clinici. Nelle aree endemiche la sintomatologia si evidenzia, nel 20% circa dei soggetti colpiti, con una sindrome simil-influenzale caratterizzata da un periodo di incubazione di circa 2-14 giorni e dai seguenti sintomi:

- febbre,
- mal di testa,
- mal di gola,
- dolorabilità muscolare ed articolare,
- congiuntivite,
- rash cutanei solitamente sul tronco, sulle estremità e sulla testa,
- linfadenopatia,
- anoressia,
- nausea,
- dolori addominali,
- diarrea e sindromi respiratorie.

Meno dell'1% presenta grave sintomatologia neurologica classificabile in tre sindromi principali: meningite, encefalite, poliomielite (paralisi flaccida acuta).

Lesioni anatomo – patologiche

Uccelli

Negli uccelli le lesioni più importanti sono caratterizzate da:

- meningoencefalite con uno spiccato coinvolgimento delle cellule del Purkinje del cervelletto,
- emorragie a carico dell'encefalo,
- splenomegalia,
- miocardite,
- coinvolgimento epatico e renale.

Equidi

Nei cavalli non sono presenti lesioni macroscopiche a carico degli organi, le lesioni sono visibili solo a livello microscopico e sono esclusivamente a carico del sistema nervoso centrale.

Uomo

Le lesioni anatomo-patologiche nell'uomo si limitano alla presenza di foci necrotici con infiltrazione di leucociti polimorfonucleati e macrofagi a carico del sistema nervoso centrale, del fegato e del cuore.

Diagnosi di laboratorio

La WND, generalmente presenta una sintomatologia sovrapponibile ad altre sindromi neurologiche, ma si possono anche avere infezioni inapparenti. Per questi motivi, i criteri diagnostici devono includere una combinazione di valutazioni cliniche e di prove di laboratorio.

La conferma di WND può essere fatta direttamente, rilevando la presenza del virus nel sangue o negli organi bersaglio, o indirettamente, attraverso la ricerca di anticorpi specifici.

Per la diagnosi di laboratorio diretta le tecniche utilizzate sono:

- isolamento virale,
- immunofluorescenza,
- ELISA,
- tecniche di biologia molecolare,
- Immunoistochimica.

I test utilizzati per la messa in evidenza di anticorpi specifici nei confronti del West Nile virus sono:

- ELISA IgM,
- ELISA IgG,
- ELISA competitiva,
- sieroneutralizzazione virale,
- test di riduzione del numero delle placche,
- fissazione del complemento,
- inibizione dell'emoagglutinazione.

In caso di sospetto il servizio veterinario dell'Azienda USL provvede altresì ad informare l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale competente per territorio e il Centro di Referenza Nazionale per lo studio e l'accertamento delle malattie esotiche degli animali (CESME), e ad eseguire prelievi di sangue su tutti i cavalli presenti in azienda.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale"
Campo Boario – 64100 TERAMO, ABRUZZO – ITALIA

Dott. ssa Rossella Lelli

Responsabile del CESME

Tel: 0861. 332230 o 0861.332244

e-mail: r.elli@izs.it

CAMPIONI DA PRELEVARE ED INVIARE AL CESME

Equidi

Animale vivo:

- sangue intero in EDTA,
- sangue intero senza anticoagulante per la ricerca di anticorpi specifici.

Animale morto:

- encefalo e midollo spinale,
- cuore,
- fegato.

Uccelli

Animale vivo:

- sangue intero in EDTA,
- sangue intero senza anticoagulante per la ricerca di anticorpi specifici,
- tamponi oro-faringei e cloacali.

Animale morto:

- cervello,
- cuore,
- reni,
- fegato.

Modalità di invio

Tramite il seguente link è possibile documentarsi sulle modalità di invio dei campioni:

<http://www.izs.it/IZS/Engine/RAServePG.php/P/274010010300/M/274110010304>

PREVENZIONE E CONTROLLO

Profilassi medica

Nelle aree in cui la malattia è endemica, l'uso della vaccinazione permette di proteggere dalla malattia i soggetti a rischio. L'assenza di un efficace trattamento terapeutico ne ha incoraggiato la produzione.

Sono stati prodotti e autorizzati vari vaccini per il WNV per l'uso nei cavalli:

- vaccino inattivato;
- vaccino vivo ricombinante che sfrutta come vettore un Canaripox virus;
- vaccino a DNA destinato agli animali in USA. Il vaccino non contiene il virus intero, ma geni codificanti per due proteine del WNV;
- vaccino chimerico che utilizza un vettore vivo (Yellow fever 17D) in cui i geni delle proteine strutturali di questo Flavivirus (prM e E), vengono sostituiti dai corrispondenti geni del WNV.

Questi vaccini hanno dimostrato una sufficiente efficacia e sicurezza nei cavalli adeguatamente vaccinati.

Nel 2004 è stato autorizzato in Israele un vaccino inattivato per le oche.

Nel Novembre 2008 la Commissione europea ha rilasciato un'autorizzazione, valida in tutta l'Unione europea, per l'immissione in commercio del vaccino inattivato da utilizzare nei cavalli di oltre 6 mesi di età.

In Italia il Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali con l'Ordinanza del 5 novembre 2008 ha approvato l'impiego della vaccinazione facoltativa degli equidi a carico dei proprietari/detentori.

Al contrario di quanto succede per gli equidi, ad oggi non sono stati registrati vaccini per uso umano anche se sono in corso sperimentazioni.

Profilassi sanitaria

Paesi endemici

Nelle aree in cui la malattia è endemica devono essere messe in atto strategie volte alla riduzione della circolazione del virus attraverso misure che agiscano sulla

densità dei vettori (riduzione delle raccolte di acqua stagnante, esecuzione di trattamenti adulticidi e larvicidi) e che riducano le possibilità di contatto tra vettori ed ospiti recettivi (applicazione di repellenti, zanzariere ecc.).

Paesi indenni

Per le caratteristiche epidemiologiche della malattia (dispersione legata agli uccelli migratori, stretto legame con le condizioni ambientali e climatiche) e per la distribuzione mondiale, la WND è da considerarsi a costante rischio di introduzione nell'Europa centro-meridionale. In tali aree i sistemi di allerta rapida rappresentano gli strumenti fondamentali da utilizzare al fine di riconoscere precocemente la circolazione virale e quindi permettono di mettere in atto tutte le misure preventive che siano in grado di limitare la diffusione dell'infezione.

Un tale sistema è stato istituito nel nostro paese con il Piano di Sorveglianza previsto nell'OM del 4 aprile 2002 ed aggiornato con il DM del 29 novembre 2007.

In seguito all'insorgenza del focolaio italiano del 2008 è stato emanato il Decreto Dirigenziale del 15 settembre 2009 (Procedure operative di intervento e flussi informativi nell'ambito del Piano di sorveglianza nazionale per la Encefalomyelitis di tipo West Nile -West Nile Disease-). Si distinguono 3 aree geografiche differenti di applicazione del suddetto Piano:

- area con circolazione virale (ACV) -area interessata dalla circolazione del WNV nel 2008-
- area di sorveglianza esterna all'ACV -area estesa per un raggio di 20 km intorno ai casi verificatisi nelle zone più esterne dell'ACV-
- resto del territorio nazionale: aree a rischio -stesse zone a rischio indicate dal precedente DM 29 novembre 2007-

I criteri generali per la sorveglianza della WND si basano sulle seguenti attività:

- sorveglianza su uccelli stanziali di specie "sinantropiche", oppure, in alternativa in allevamenti avicoli rurali o all'aperto o, in alternativa tramite il posizionamento di gruppi di polli sentinella;
- sorveglianza negli equidi;

- sorveglianza entomologica;
- sorveglianza dell'avifauna selvatica di specie migratorie.

PRINCIPALI RIFERIMENTI LEGISLATIVI

- Decreto Dirigenziale del 15 settembre 2009. Procedure operative di intervento e flussi informativi nell'ambito del Piano di sorveglianza nazionale per la Encefalomielite di tipo West Nile (West Nile Disease). (GU n. 229 del 2-10-2009)
- Ordinanza 5 novembre 2008 West Nile Disease – Notifica alla Commissione Europea e all'OIE - Piano di sorveglianza straordinaria
- Decreto Ministeriale del 29 novembre 2007. Approvazione del Piano di sorveglianza nazionale per la encefalomielite di tipo West Nile (West Nile Disease)
- Circolare del Ministero della Salute n. 3 del 08/05/2003 recante raccomandazioni per la sicurezza del trasporto di materiali infettivi e di campioni diagnostici
- Circolare del Ministero della Salute del 18/09/2002 sull'infezione da West Nile fever-modulo di invio campione.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Arroyo J, Miller C, Catalan J, Myers GA, Ratterree MS, Trent DW, Monath TP. ChimeriVax-West Nile virus live-attenuated vaccine: Preclinical evaluation of safety, immunogenicity, and efficacy(2004). *J Virol*, 78, 12497-12507.
- 2) Autorino GL, Battisti A, Deubel V, Ferrari G, Forletta R, Giovannini A, Lelli R, Murri S, Scicluna MT. West Nile virus epidemic in horses, Tuscany region, Italy (2002). *Emerg Infect Dis*, 8, 1372-1378.
- 3) Bakonyi T, Hubalek Z, Rudolf I, Nowotny N. Novel flavivirus or new lineage of West Nile virus, central Europe (2005). *Emerg Infect Dis*, 11, 225-231.
- 4) Bakonyi T, Ivanics É, Erdélyi K, Ursu K, Ferenczi E, Weissenböck H, Nowotny N. Lineage 1 and 2 strains of encephalitic West Nile Virus, central Europe (2006). *Emerg Infect Dis*, 12, 618-623.
- 5) Bin H, Grossman Z, Pokamunski S, Malkinson M, Weiss L, Duvdevani P, Banet C, Weisman Y, Annis E, Gandaku D, Yahalom V, Hindyieh M, Shulman L, Mendelson E. West Nile fever in Israel 1999–2000: from geese to humans (2001). *Ann. NY Acad. Sci.*, 951, 127-142.
- 6) Bunning ML, Wilson TM and Bowen RA. West Nile virus infection (2004). In: Infectious diseases of livestock with special reference to South Africa (J.A.W. Coetzer & R.C. Tustin, eds). Oxford University Press, Cape Town, 1004-1011.
- 7) Campbell GL, Marfin AA, Lanciotti RS, Gubler DJ. West Nile virus (2002). *Lancet Infect Dis*, 2, 519-529.
- 8) Cantile C, Del Piero F, Di Guardo G, Arispici M. Pathologic and Immunohistochemical findings in naturally occurring West Nile virus infection in horses (2001). *Vet Pathol*, 38, 414–421.
- 9) Castillo-Olivares J, Wood J. West Nile virus infection in horses (2004). *Vet Res*, 35, 467-483.
- 10) Chevalier V, de la Rocque S, Baldet T, Vial L, Roger F. Epidemiological process involved in the emergence of vector-borne diseases: West Nile fever, Rift Valley fever, Japanese encephalitis and Crimean-Congo haemorrhagic fever (2004). *Rev Sci Tech*, 23, 535-555.

- 11) Doupchin G, Zientara S, Zeller H, Murgue B. West Nile: worldwide current situation in animals and humans. (2004). *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 27(5), 343-355.
- 12) Davis BS, Chang GJ, Cropp B, Roehring JT, Martin DA, Mitchell CJ, Bowen R and Bunning ML. West Nile Virus recombinant DNA vaccine protects mouse and horse from virus challenge and expresses in vitro a noninfectious recombinant antigen that can be used in enzyme-linked immunosorbent assays (2001). *Journal of virology*, 75(9), 4040-4047.
- 13) Filippini G, Lelli R, Savini G, Giovannini A, Guberti V, Santucci U, Romi R, Toma L, Goffredo M, Caporale V. West Nile Virus surveillance in Italy: results of three years activities. 2005 National Conference on West Nile Virus in the United States, San Jose, California, February, 8-9 2005.
- 14) Fonseca DM, Keyghobadi N, Malcolm CA, Mehmet C, Schaffner F, Mogi M, Fleischer RC, Wilkerson RC. Emerging Vectors in the *Culex pipiens* Complex (2004). *Science*, 303, 1535-1538.
- 15) Heinz FX, Collett MS, Purcell RH, Gould EA, Howard CR, Houghton M, Moormann RJM, Rice CM, Thiel HJ. (2000): Family Flaviviridae. In: Van Regenmortel MHC, Fauquet CM, Bishop DHL, Carstens EB, Estes MK, Lemon SM, Maniloff J, Mayo MA, McGeoch DJ, Pringle CR, Wickner RB (eds), *Virus Taxonomy. Seventh Report on International Committee on Taxonomy of Viruses*, pp. 859–878. Academic press, San Diego, San Francisco, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo.
- 16) Hubalek Z. European experience with the West Nile virus ecology and epidemiology: could it be relevant for the New World? (2000). *Viral Immunol*, 13, 415-426.
- 17) Hubalek Z, Halouzka J. West Nile fever-a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe (1999). *Emerg Infect Dis*, 5, 643-650.
- 18) Karaca K, Bowen R, Austgen LE, Teehee M, Siger L, Grosenbaugh D, Loosemore L, Audonnet JC, Nordgren R, Minke JM. Recombinant canarypox vectored West Nile virus (WNV) vaccine protects dogs and cats against a mosquito WNV challenge (2005). *Vaccine*, 23, 3808-3813.

- 19) Klenk K, Komar N. Poor replication of West Nile virus (New York 1999 strain) in three reptilian and one amphibian species (2003). *Am J Trop Med Hyg*, 69, 260-262.
- 20) Komar N. West Nile virus: epidemiology and ecology in North America (2003). *Adv Virus Res*, 61, 185-234.
- 21) Komar N. - West Nile viral encephalitis (2000). *Rev Sci Tech*, 19, 166-176.
- 22) Kramer LD, Bernard KA. West Nile virus infection in birds and mammals (2001). *Ann N Y Acad Sci*, 951, 84-93.
- 23) Kramer LD, Styer LM, Ebel GD (2008). A Global Perspective on the Epidemiology of West Nile Virus. *Annual Review of Entomology*, 53: 61-81.
- 24) Lanciotti RS, Roehrig JT, Deubel V, Smith J, Parker M, et al. Origin of the West Nile virus responsible for the outbreak of encephalitis in the Northeastern United States. (1999). *Science*, 286, 2333-2337.
- 25) Lanciotti RS, Ebel GD, Deubel V, Kerst AJ, Murri S, et al. Complete genome sequences and phylogenetic analysis of West Nile virus strains isolated from the United States, Europe, and the Middle East. (2002). *Virology*. 298: 96-105.
- 26) Lelli R, Savini G, Teodori L, Filipponi G, Di Gennaro A, Leone A, Di Gialleonardo L, Venturi L, Caporale V. Serological Evidence of USUTU Virus Occurrence in North-Eastern Italy. (2008). *Zoonoses Public Health*. 55, 361-367.
- 27) List of Wildlife Species Affected by West Nile Virus:
http://www.nwhc.usgs.gov/disease_information/west_nile_virus/affected_species.jsp
<http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/birdspecies.htm>
- 28) Malkinson M, Banet C. The role of birds in the ecology of West Nile Virus in Europe and Africa (2002). *Curr Top Microbiol Immunol*, 267, 309-322.
- 29) McLean RG, Ubico SR, Docherty DE, Hansen WR, Sileo L, McNamara TS. West Nile virus transmission and ecology in birds (2001). *Ann N Y Acad Sci*, 951, 54-57.

- 30) McLean RG, Ubico SR, Bourne D, Komar N. West Nile virus in livestock and wildlife (2002). *Curr Top Microbiol Immunol*, 267, 271-308.
- 31) Melnick JL, Paul JR, Riordan JT, et al. Isolation from human sera in Egypt of a virus apparently identical to West Nile virus (18884). (1951). *Proc Soc Exp Biol Med*, 77, 661-665.
- 32) Morales MA, Barrandeguy M, Fabbri C, Garcia JB, Vissani A, Trono K, Gutierrez G, Pigretti S, Menchaca H, Garrido N, Taylor N, Fernandez F, Levis S and Enría D. West Nile Virus isolation from equines in Argentina, 2006 (2006). *Emerg Infect Dis*, 12(10).
- 33) Monath TP, Liu J, Kanasa-Thanan N, Myers GA, Nichols R, Deary A, McCarthy K, Casey J, Ermak T, Shin S, Arroyo J, Guirakhoo F, Kennedy JS, Ennis FA, Green S, Bedford P. A live, attenuated recombinant West Nile virus vaccine (2006). *Proc Natl Acad Sci USA (PNAS)*, 103, 6694-6699.
- 34) Murgue B, Murri S, Triki H, Deubel V, Zeller HG. West Nile in the Mediterranean basin: 1950-2000 (2001). *Ann N Y Acad Sci*, 951, 117-126.
- 35) Murgue B, Murri S, Zientara S, Durand B, Durand J-P, Zeller H. West Nile outbreak in horses in southern France, 2000: The return after 35 years (2001). *Emerg Infect Dis*, 7, 692-696.
- 36) Murgue B., Zeller H. and Deubel V. The ecology and epidemiology of West Nile virus in Africa, Europe and Asia (2002). In: Japanese Encephalitis and West Nile viruses (J.S. Mackenzie, A.D.T. Barrett and V. Deubel). Springer, 195-222.
- 37) Nash D, Mostashari F, Fine A, Miller J, O'Leary D, Murray K, Huang A, Rosenberg A, Greenberg A, Sherman M, Wong S, Layton M, 1999 West Nile Outbreak Response Working Group. The outbreak of West Nile virus infection in the New York City area 1999 (2001). *N Engl J Med*, 344, 1807-14.
- 38) OIE (2008). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/2008/pdf/2.01.20_WEST_NILE.pdf
- 39) Petersen LR, Roehrig JT. West Nile virus: a reemerging global pathogen. (2001). *Emerg Infect Dis*, 7 (4), 611-614.

- 40) Peterson AT, Vieglais DA, Andreasen JK. Migratory birds modeled as critical transport agents for West Nile Virus in North America (2003). *Vector Borne Zoonotic Dis*, 3, 27-37.
- 41) Piano di sorveglianza Nazionale della West Nile Disease (WND). D.M. 29 Novembre 2007 – GURI del 12.02.2008 L 36.
- 42) Pletnev AG, Swayne DE, Speicher J, Rummyantsev AA, Murphy BR. - Chimeric West Nile/dengue virus vaccine candidate: Preclinical evaluation in mice, geese and monkeys for safety and immunogenicity (2006). *Vaccine* (in press).
- 43) Rappole JH, Derrickson SR, Hubalek Z. Migratory birds and spread of West Nile virus in the Western hemisphere (2000). *Emerg Infect Dis*, 6, 319-328.
- 44) Rappole JH, Hubalek Z. Migratory birds and West Nile virus (2003). *J Appl Microbiol*, 94, Suppl, 47S-58S.
- 45) Roehring JT, Layton M, Smith P, Campbell GL, Nasci R, Lanciotti RS. The emergence of West Nile virus in North America: ecology, epidemiology and surveillance (2002). In: Japanese Encephalitis and West Nile viruses (J.S. Mackenzie, A.D.T. Barrett and V. Deubel). Springer, 223-240.
- 46) Salomon J. and Vaughn DW. Pathogenesis and clinical features of Japanese Encephalitis and West Nile virus infections (2002). In: Japanese Encephalitis and West Nile viruses (J.S. Mackenzie, A.D.T. Barrett and V. Deubel). Springer, 171-194.
- 47) Savini G, Monaco F, Calistri P, Lelli R. Phylogenetic analysis of West Nile virus isolated in Italy in 2008. (2008). *Euro Surveill*, 13(48), pii: 19048
- 48) Smithburn KC, Hughes TP, Burke AW, Paul JH. A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. (1940). *Am J Trop Med Hyg*, 20, 471-73.
- 49) Tesh RB, Arroyo J, Travassos Da Rosa APA, Guzman H, Xiao S-Y, Monath TP. Efficacy of killed virus vaccine, live attenuated chimeric virus vaccine, and passive immunization for prevention of West Nile virus encephalitis in hamster model (2002). *Emerg Infect Dis*, 8, 1392-1397.

- 50) Turell MJ, Bunning M, Ludwig GV, Ortman B, Chang J, Speaker T, Spielman A, McLean R, Komar N, Gates R, McNamara T, Creekmore T, Farley L, Mitchell CJ. DNA Vaccine for West Nile virus Infection in fish crows (*Corvus ossifragus*) (2003). *Emerg Infect Dis*, 9(9), 1077-1081.
- 51) Yang JS, Kim JJ, Hwang D, Choo AY, Dang K, Maguire H, Kudchodkar S, Ramanathan MP, and Weiner DB. Induction of potent Th1-Type immune responses from a novel DNA vaccine for West Nile Virus New York isolate (WNV-NY1999) (2001). *The Journal of Infectious Diseases*, 184, 809-16.
- 52) Zeller HG, Murgue B. - Rôle des oiseaux migrateurs dans l'épidémiologie du virus West Nile (2001). *Méd Mal Infect*, 31, Suppl 2, 168-174.