

Piano sorveglianza arboviroosi 2015

1. Sorveglianza sanitaria dei casi umani di Chikungunya/Dengue

Si confermano anche per il corrente anno i due cardini della strategia di prevenzione già ampiamente sottolineati nei precedenti Piani regionali:

- § sorveglianza entomologica e lotta alla zanzara tigre, perseguendo la massima riduzione possibile della densità di popolazione delle zanzare,
- § individuazione più precoce possibile dei casi, per attuare immediatamente le misure di controllo finalizzate a impedire la trasmissione del virus dalla persona infetta alle zanzare e da queste a un'altra persona.

La sorveglianza sanitaria dei casi umani di Chikungunya e Dengue estesa per tutto l'anno, deve essere potenziata nel periodo di attività del vettore fino a raggiungere un livello di sensibilità tale da permettere, nelle aree infestate, l'individuazione tempestiva di tutti i casi sospetti/possibili e l'adozione immediata delle necessarie misure di controllo.

Pertanto, **nel periodo 15 giugno - 31 ottobre 2015** (fatte salve eventuali proroghe qualora l'attività del vettore stesso sia ancora rilevante dopo tale data).

deve essere posta particolare attenzione all'individuazione precoce dei **casi sospetti**:

- § persone sintomatiche che rientrano da un Paese ove le malattie in argomento sono endemiche (Dengue: <http://www.healthmap.org/dengue/en/>; Chikungunya: <http://www.cdc.gov/chikungunya/geo/index.html>).

Ai fini della definizione di caso la data di rientro dall'estero deve essere avvenuta nei 21 giorni precedenti l'esordio sintomi.

- § persone con sintomatologia clinica compatibile con Dengue/Chikungunya, ma che non hanno viaggiato in aree endemiche, al fine di riconoscere eventuali casi autoctoni e cluster di casi autoctoni (due o più casi insorti nell'arco temporale di 30 giorni in un'area territoriale ristretta), qualora fosse sfuggito alla diagnosi il caso indice.

Al tal fine è fondamentale che i clinici segnalino tempestivamente, entro 12 ore, tutti i casi sospetti al Dipartimento di Sanità pubblica (DSP) competente per territorio e facciano pervenire in tempi rapidi i campioni biologici prelevati dai pazienti ricoverati al Laboratorio di riferimento regionale - CRREM, ubicato presso l'Unità Operativa di Microbiologia dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna, responsabile la Prof. Maria Paola Landini.

Per la segnalazione del caso ci si avvarrà della consueta scheda SSCMI/2006, mentre per l'invio dei campioni al laboratorio, a prescindere dalle indicazioni della nota circolare ministeriale, dovrà essere utilizzato il modulo già in uso (allegato 2).

I campioni biologici dovranno essere raccolti, conservati, confezionati per il trasporto e conferiti al suddetto Laboratorio CRREM nel rispetto delle indicazioni contenute nell'allegato 3 nel quale sono indicati anche gli orari di apertura, le modalità e i numeri di telefono per contattare gli operatori del laboratorio. Il Laboratorio di riferimento regionale comunicherà via fax, al richiedente, al DSP territorialmente competente e al Servizio Sanità pubblica della Regione, gli esiti degli accertamenti entro 24 ore dal ricevimento del materiale da esaminare.

Altrettanto rilevante al fine del buon esito della sorveglianza è l'attività dei Dipartimenti di Sanità pubblica (DSP) delle Aziende Usl che, una volta acquisita la segnalazione, dovranno prontamente attivarsi per:

- § effettuare l'indagine epidemiologica,
- § informare il paziente sulle misure utili a ridurre il rischio di trasmissione attraverso l'insetto vettore,
- § informare coloro che assistono il paziente al domicilio sulle misure utili a prevenire la possibile trasmissione per via parenterale della malattia (vedere Circolare Ministeriale),
- § nel caso di persone non ricoverate, raccogliere campioni biologici del paziente da inviare al Laboratorio regionale di riferimento o verificare che ciò sia fatto,
- § nel caso di persone non ricoverate o dimesse anticipatamente, verificare che il paziente rispetti la misura dell'isolamento domiciliare fiduciario che deve essere attuato fino ad esclusione della diagnosi o, in caso di conferma, per tutto il periodo di trasmissibilità del virus implicato (per Chikungunya/Dengue, di norma, 7 giorni a partire dall'inizio dei sintomi),
- § attivare i competenti Uffici comunali per la predisposizione degli interventi di disinfestazione il cui avvio deve essere implementato entro 24 ore dalla segnalazione,
- § se il caso viene classificato come probabile o confermato, estendere la sorveglianza, effettuare un approfondimento epidemiologico, e, se necessario, condurre un'accurata indagine ambientale, per valutare la presenza di altri casi importati o la presenza/comparsa di casi autoctoni o di cluster di casi autoctoni. In caso di conferma di un caso autoctono o di un cluster la sorveglianza andrà ulteriormente potenziata avviando attività di sorveglianza attiva anche con il coinvolgimento dei medici curanti, ospedalieri e territoriali.

Relativamente ai debiti informativi:

- a. per ogni caso sospetto che si verifichi nel periodo di attività del vettore, il DSP deve darne immediata notizia ai Servizi regionali attraverso l'inserimento dei dati nel sistema informativo delle malattie infettive - SMI (l'ALERT è integrato nello SMI);
- b. qualora gli accertamenti di laboratorio permettano di classificare il caso come probabile o confermato¹, oltre all'aggiornamento di SMI, max entro 24 ore, va completata l'informazione con l'invio al Servizio regionale di Sanità pubblica delle singole schede individuali di notifica e sorveglianza di caso di Chikungunya/Dengue/Zika virus (allegato 4) e anche della scheda di segnalazione di cluster autoctono (allegato 5) se ci si trova in tale situazione.

In presenza di casi o di cluster autoctoni, inoltre, dovrà essere predisposta una relazione epidemiologica esaustiva da inviare al Servizio Sanità pubblica della Regione.

Infine, il DSP dovrà aggiornare la scheda in SMI e rimandare al Servizio regionale di Sanità pubblica la scheda di notifica e sorveglianza compilata in ogni sua parte allorché un caso probabile venga confermato.

Si chiede inoltre di aggiornare la scheda al termine del follow up di 30 giorni.

Nella tabella che segue sono elencati i casi confermati di Dengue e Chikungunya, segnalati in Europa, Italia e Regione Emilia-Romagna -questi ultimi tutti importati- nel periodo 2008-2014.

¹ Per la definizione di caso si rimanda alla Circolare annuale emanata dal Ministero della Salute.

Tab. 1 - Casi confermati di Dengue e Chikungunya in Europa, Italia ed Emilia-Romagna Anni 2008-2014							
Dengue	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
EUROPA	487	522	1143	560	1118	n.d.	n.d.
ITALIA	12	13	51	47	79	142	n.d.
REGIONE E-R	5	8	19	16	11	24	17
Chikungunya							
EUROPA	25	100	56	41	40	n.d.	n.d.
ITALIA	9	2	7	2	5	3	n.d.
REGIONE E-R	1	2	3	1	0	1	15

Fonti: Europa = ECDC; Italia = ECDC anno 2008, Ministero della Salute anni 2009 – 2013

2. West Nile Virus e altri arbovirus di potenziale interesse sanitario con ciclo prevalente animale-vettore-uomo

a. Premessa/Introduzione:

Il West Nile virus (WNV), isolato nel 1937 a Omogo (West Nile – Uganda) appartiene al genere *Flavivirus*, famiglia *Flaviviridae*, in cui sono compresi circa 70 virus, la maggior parte dei quali trasmessi da vettore (zecche e zanzare).

Nell'uomo, l'infezione da virus West Nile (WNV) può decorrere in modo completamente asintomatico (80% circa dei casi), presentarsi come sindrome febbrile, con cefalea, dolori muscolari e possibile eruzione cutanea e linfadenopatia a risoluzione spontanea (20% circa dei casi) o manifestarsi come malattia neuro invasiva (<1% dei casi) a possibile decorso fatale.

In Europa in anni recenti WNV è stato responsabile di epidemie rilevanti nella Federazione Russa, in Ungheria, in Romania, in Grecia e nell'area balcanica.

Nella tabella che segue è riportato il numero dei casi autoctoni, suddivisi per regione, di malattia neuro invasiva, in Italia, nel periodo 2008-2014.

Tab. 2 – Distribuzione dei casi confermati di malattia neuro-invasiva° da West Nile in Italia, 2008-2014 Fonte: Ministero della Salute - Istituto Superiore di Sanità								
Regione	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014 (provvisorio)	Totale#
Emilia Romagna	3	9	0 [+1*]	0	0	20	7	39
Veneto	5	7	3 [+1*]	8	21	13	1	58
Friuli Venezia Giulia	0	0	0	2	4	0	0	6
Lombardia	0	2	0	0	0	10	13	25
Basilicata	0	0	0	0	1	0	0	1
Puglia	0	0	0	0	0	1	0	1
Sardegna	0	0	0	4	2	0	0	6
Totale#	8	18	3	14	28	44	21	136

° Non sono inclusi i casi di febbre da WNV segnalati al sistema di sorveglianza epidemiologica.
* Caso importato dalla Romania.
Non include i casi importati.

Il virus è responsabile della medesima sintomatologia clinica, riscontrabile nell'uomo, anche negli equidi e negli uccelli. Anche in questi casi la maggior parte delle infezioni decorre in modo asintomatico. Nei cavalli è stato stimato che circa il 10% degli animali infetti sviluppa la forma clinica caratterizzata da febbre, atassia, iperestesia, paresi, paralisi. I segni clinici possono risolversi con guarigione in 5-15 giorni oppure progredire rapidamente con morte dei soggetti.

WNV è trasmesso tramite la puntura di zanzare infette. Il ciclo biologico coinvolge gli uccelli selvatici come ospiti amplificatori, mentre i mammiferi infettati si comportano come ospiti accidentali a fondo cieco, in quanto la viremia non presenta un titolo tale da infettare nuovamente un vettore competente e contribuire così alla prosecuzione del ciclo di trasmissione.

Il virus si mantiene nell'ambiente attraverso il continuo passaggio tra gli insetti ematofagi, che albergano il virus a livello delle ghiandole salivari, e gli uccelli che rappresentano il reservoir d'infezione.

Nell'uomo è documentata la trasmissione interumana mediante trasfusioni di sangue o di emocomponenti e trapianto di organi o tessuti.

b. Sorveglianza della circolazione virale

L'ecologia di WNV è questione assai complessa per l'interazione di numerosi attori biotici e abiotici, col coinvolgimento di un numero imprecisato di specie di uccelli col ruolo di serbatoi amplificatori e di diffusori su lunghe distanze (migratori) e a breve-medio raggio (stanziali). WNV ha ampiamente dimostrato la capacità di superare l'inverno nei climi temperati mediterranei con ripresa del ciclo di trasmissione alla ricomparsa dell'attività vettoriale e di condizioni climatiche favorevoli.

La complessità del ciclo epidemiologico è tale che nonostante gli sforzi compiuti risulta tuttora difficile prevedere su base modellistica il realizzarsi della circolazione virale in un dato ambiente.

Vi è invece la concreta possibilità di organizzare un sistema di sorveglianza per il rilevamento precoce della circolazione di WNV e la stima del rischio sanitario associato, mediante la cattura di zanzare e uccelli e il loro screening per la ricerca del patogeno.

Considerando quindi il complesso ciclo biologico che caratterizza la circolazione di WNV, al fine di un'efficace controllo delle forme neuro invasive d'infezione da questo virus è necessario attivare una sorveglianza integrata tra aspetti entomologici, veterinari e umani.

I. Sorveglianza entomologica

Diverse specie del genere *Culex*, tendenzialmente ornitofile, sono i vettori principali nel ciclo di amplificazione di WNV, con notevole varietà di specie a seconda degli areali geografici. In Europa il vettore principale risulta essere il complesso *Culex pipiens* nelle sue forme intermedie che hanno come estremi *Cx. pipiens pipiens*, marcatamente ornitofila, e *Cx. pipiens molestus*, preferenzialmente mammofila. Altre *Culex* come *Cx. modestus* e *Cx. perexiguus* sembrano svolgere un ruolo decisamente secondario.

Sia negli Stati Uniti che in Europa è stata dimostrata la fattibilità di gestire una rete di trappole attrattive che, posizionate sul territorio, producono stime della densità del/i vettore/i e mostrano il tasso di infezione da arbovirus (minimum infection rate-MIR e maximum likelihood estimation-MLE). La sensibilità del sistema di sorveglianza dipende dalla densità delle trappole e dalla loro efficacia di cattura. Il sistema sviluppato negli ultimi anni in Emilia-Romagna è basato sull'uso combinato di trappole attrattive innescate ad anidride carbonica (CO₂) senza fonte luminosa (CAA-2004) e Gravid Trap. Le trappole sono disposte su una griglia con maglie 11x11 km a coprire

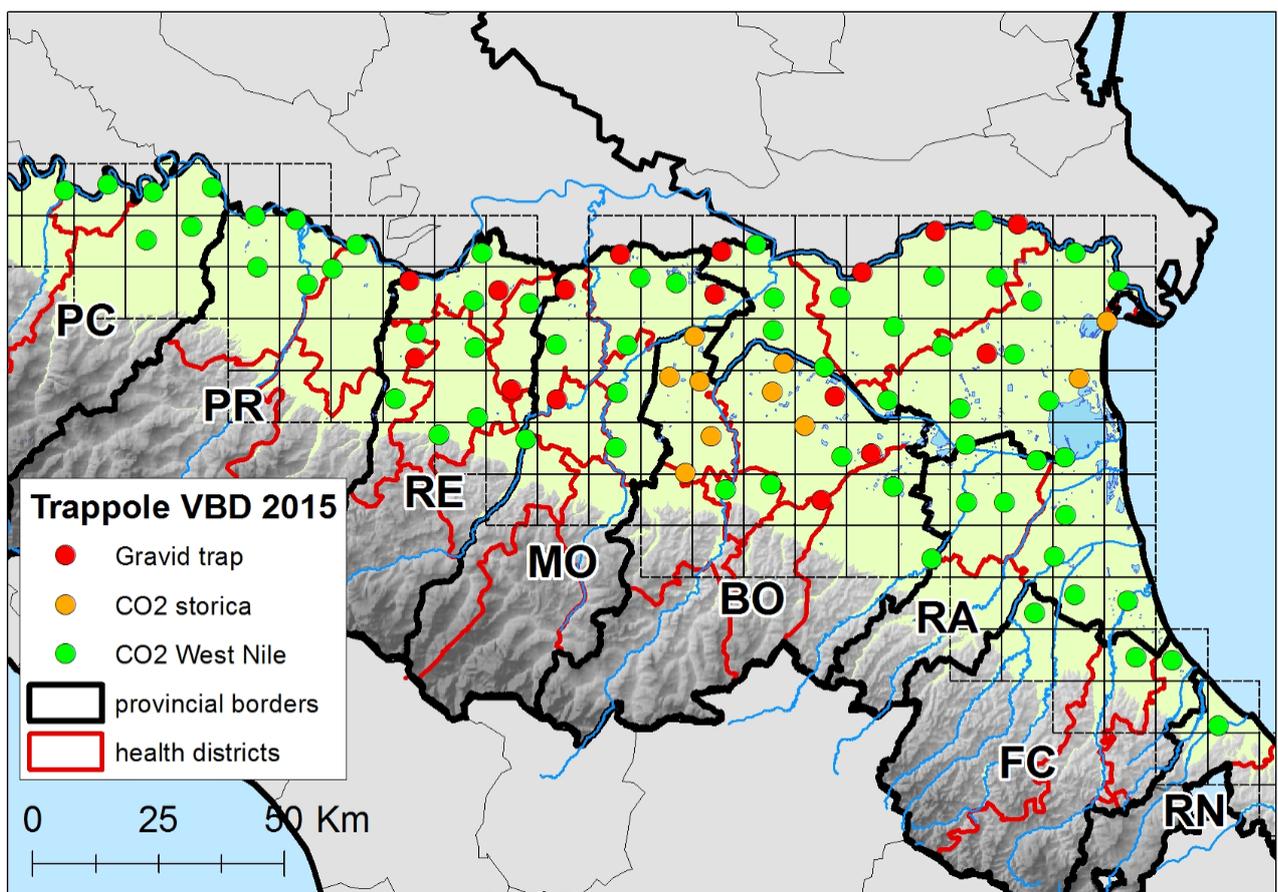
l'area in cui si è evidenziata circolazione di WNV e/o considerata a maggior rischio, alla luce delle evidenze dello scorso anno e del passato. All'interno di ogni quadrante verrà scelta da un entomologo esperto del Gruppo regionale una stazione di cattura fissa idonea per ottimizzare le catture di *Culex pipiens* e *Cx. modestus*, ritenuti i vettori di interesse nel territorio regionale sulla base dell'esperienza acquisita.

Le specie *Cx. pipiens* e *Cx. modestus* catturate saranno suddivise in pool da un minimo di 5 esemplari (catture da 1 a 4 individui andranno registrate come "resto" e non conservate) a un **massimo di 200 individui** per specie-sito-data specifici. Le zanzare delle altre specie non verranno suddivise in pool ma tenute in provette singole per specie-sito-data. Tutti i campioni sono conservati in provette da crioconservazione codificate.

I campioni *Cx. pipiens* e *Cx. modestus*, vanno inviati ogni settimana, entro due-tre giorni dalla cattura, al laboratorio regionale di riferimento dell'Istituto Zooprofilattico della Lombardia e dell'Emilia-Romagna – sezione di Reggio Emilia, utilizzando contenitori coibentati idonei al trasporto del ghiaccio secco. Le provette contenenti zanzare di altre specie sono conservate in azoto per future analisi.

La rete di monitoraggio è composta da 72 trappole CO₂ e 16 Gravid Traps attive da inizio giugno a fine settembre 2015; l'attuale configurazione della rete è osservabile in fig. 1.

Fig. 1 - Mappa con stazioni di cattura zanzare nel Piano regionale di sorveglianza West Nile 2015



Il campionamento di zanzare si svolge nel periodo inizio giugno-fine settembre con 9 turni di raccolta a cadenza ogni 14 giorni secondo il seguente schema:

Tab.3 - Calendario campionamento zanzare

PERIODO			
DAL	AL	SETTIMANE	CAMP.
08-giu	21-giu	24-25	1
22-giu	05-lug	26-27	2
06-lug	19-lug	28-29	3
20-lug	02-ago	30-31	4
03-ago	16-ago	32-33	5
17-ago	30-ago	34-35	6
31-ago	13-set	36-37	7
14-set	27-set	38-39	8
28-set	11-ott	40-41	9

II. Sorveglianza veterinaria

Uccelli

Gli uccelli sono i principali ospiti vertebrati del WNV. 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.

La sorveglianza sugli uccelli stanziali, finalizzata al rilevamento precoce della circolazione virale WN, dal 2006 è inserita nel piano regionale di monitoraggio della fauna selvatica svolto in accordo con gli Uffici faunistici provinciali e la Polizia provinciale e con consulenza di ISPRA (Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale). La programmazione e le modalità di esecuzione sono coerenti con quanto previsto dal piano di sorveglianza nazionale (O.M. 04/08/2011; D.M. 03/06/2014). Anche nel 2015 saranno campionate le cornacchie grigie (*Corvus cornix*) e le gazze (*Pica pica*), catturate o abbattute. Il campione potrà essere integrato da ghiandaie (*Garrulus glandarius*). Le attività di monitoraggio sono partite nel mese di maggio e termineranno alla fine di settembre. Il campionamento, sulla base dell'estensione del territorio, è stato stratificato per provincia e verrà svolto negli ambiti territoriali di caccia (ATC) di pianura e collina. Per ciascuna zona gli uccelli dovranno essere prelevati ogni due settimane, secondo un calendario definito (tab. 3). Per quanto possibile i soggetti prelevati dovranno essere animali giovani e nati nell'anno, abbattuti nell'ambito dei Piani Provinciali di controllo. Nel corso del 2015 si prevede in tal modo di esaminare almeno 900 uccelli.

La sorveglianza attiva viene integrata con una sorveglianza passiva effettuata sugli episodi di mortalità anomala nella fauna selvatica. Eventuali soggetti di altre specie (strigiformi, ardeidi, laridi) rinvenuti morti o deceduti nei Centri di Recupero Animali Selvatici (CRAS) potranno essere conferiti, con le stesse modalità dei soggetti prelevati in sorveglianza attiva, alle sedi IZSLER competenti, che provvederanno al prelievo degli organi (cervello, fegato, rene e cuore) per le indagini virologiche biomolecolari (PCR).

Tutti i campioni vengono consegnati alla Sezione provinciale dell'IZSLER competente per luogo di cattura e, da questa, consegnati alla sezione IZSLER di Reggio Emilia che garantisce la esecuzione delle analisi PCR e relativi esiti in tempi efficaci (vedasi punto 2.2.4) ai fini di una rilevazione precoce della circolazione virale. I campioni positivi saranno inviati al Centro Studi per le Malattie Esotiche (CESME) presso l'IZS di Teramo per la necessaria conferma.

Tab. 4 - Calendario dei prelievi MAGGIO-SETTEMBRE 2015

AUSL	ATC di campionamento	Periodo del mese in cui effettuare il prelievo		Totale mensile per provincia
		1° quindicina	2° quindicina	
Piacenza	PC01, PC02, PC04	8	8	16
Parma	PR01 PR02 PR03	11	11	22
Reggio E.	RE01 RE02	10	10	20
Modena	MO01 MO02	11	11	22
Bologna	BO01	10	10	20
Imola	BO02	6	6	12
Ferrara	FE01	6	6	32
	FE02, FE04, FE05, FE06	5	5	
	FE03, FE07, FE08, FE09	5	5	
Romagna	RA01, RA02	10	10	20
	FC01	9	9	18
Totale		91	91	182

Cavalli

A causa della diffusa pratica della vaccinazione, anche nel 2015 in regione Emilia-Romagna viene effettuata esclusivamente la sorveglianza clinica (passiva) basata sulla rilevazione della sintomatologia neurologica e non si usano cavalli sentinella. Tale modalità, grazie anche alla fattiva collaborazione dei veterinari liberi professionisti e delle cliniche universitarie, si è dimostrata uno strumento precoce ed efficace per rilevare casi di malattia WN. Il DM 03/06/2014 dispone che tutti i casi di sintomatologia nervosa negli equidi devono essere notificati e sottoposti ad indagini approfondite per escludere o confermare la WND, indipendentemente dall'area geografica dove questi si manifestano. Sintomi tipici della malattia negli equidi sono i seguenti:

- debolezza arti posteriori;
- incapacità a mantenere la stazione quadrupedale;
- paralisi/paresi agli arti;
- fascicolazioni muscolari;
- deficit propriocettivi;
- cecità;
- ptosi labbro inferiore o paresi/paralisi dei muscoli labiali o
- facciali;
- digrignamento dei denti.

Si ritiene utile ricordare la disponibilità di un filmato relativo alla malattia sul sito del centro nazionale di referenza nazionale (CESME) dell'IZS Abruzzo e Molise:

http://sorveglianza.izs.it/emergenze/west_nile/emergenze.html

L'O.M. prevede inoltre che deve essere considerato come sospetto di encefalomyelite di tipo West Nile anche un risultato sierologico positivo in assenza di sintomatologia clinica.

Nel caso di sospetta sintomatologia neurologica in equidi, Il Servizio veterinario dell'Azienda Usl attua tutte le misure indicate al punto 5 dell'allegato A del D.M. 3 giugno 2014 e provvede ad eseguire prelievi di sangue sugli equidi che manifestano sintomatologia clinica riferibile a WND nonché l'esame anatomo-patologico ed il prelievo del cervello e del midollo spinale, del cuore e della milza in caso di decesso. I campioni vanno inviati alla sezione dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale competente per territorio per il successivo inoltro al CESME per gli esami di conferma.

Le schede di indagine epidemiologica negli equidi e di accompagnamento campioni sono disponibili nella banca dati nazionale equidi (<https://www.vetinfo.sanita.it>), sezione stampa modelli. Qualora, durante il 2015, le schede venissero modificate, il Servizio Veterinario e Igiene degli alimenti regionale provvederà a inviare gli aggiornamenti ai servizi territoriali.

Istruzioni per il prelievo di campioni su casi sospetti:

Prelevare due campioni di sangue usando due provette:

- provetta senza anticoagulante per l'esame sierologico
- provetta con EDTA per i test virologici

In caso di morte improvvisa: prelievo di cervello, midollo allungato, midollo spinale, cuore, fegato e se possibile LCR.

La sezione IZS competente provvede ad inviare direttamente i campioni di organi al CESME per l'esecuzione delle indagini di laboratorio, tenendo copia della schede di accompagnamento dei campioni. I campioni di siero e di sangue saranno invece esaminati dalla Sezione IZSLER di Reggio che provvederà, in caso di esito positivo, all'invio al CESME per la conferma.

Il piano di sorveglianza nazionale WND prevede che gli esiti anche parziali vengano inviati dal CESME all'IZS competente, alla Regione, ed al Ministero della Salute.

III. Sorveglianza umana

Sorveglianza dei casi umani di sindrome neurologica da virus West Nile

La sorveglianza dei casi umani è basata sulle forme cliniche di malattia neuroinvasiva (WNND).

Il sospetto diagnostico di WNND va posto in qualunque persona ricoverata che presenti febbre alta (> 38,5 °C) e manifestazioni neurologiche di tipo encefalite, meningite a liquor limpido o poliradicoloneurite (simil Sindrome di Guillain Barré) o paralisi flaccida acuta.

Fermo restando che tale malattia può essere sospettata in qualsiasi periodo dell'anno in persone che hanno effettuato un viaggio recente in aree in cui la malattia è endemica o ha fatto la sua comparsa, la sorveglianza nell'ambito del territorio regionale andrà assicurata, in modo particolare, su tutte le forme sospette insorte **nel periodo 15 giugno – 31 ottobre** –corrispondente al periodo di maggiore attività del vettore – fatte salve eventuali proroghe qualora l'attività del vettore stesso sia ancora rilevante dopo il 31 ottobre.

Nelle situazioni sopra indicate andrà ricercato il virus West Nile e/o la presenza dei relativi anticorpi nel liquor, sangue e/o siero della persona assistita. Inoltre è possibile anche la ricerca del virus nelle urine. I campioni di sangue, siero, liquor, urine andranno recapitati in tempi rapidi al laboratorio di riferimento regionale CRREM – Centro Regionale di Riferimento per le Emergenze Microbiologiche – dell'Unità

Operativa di Microbiologia dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria S. Orsola-Malpighi di Bologna. Quest'ultimo fornirà, via fax, i risultati delle indagini effettuate, entro 24 ore dal ricevimento del materiale da esaminare, alla U.O. richiedente, al Dipartimento Sanità pubblica (DSP) territorialmente competente e al Servizio Sanità pubblica regionale.

I campioni biologici dovranno essere raccolti, conservati, confezionati per il trasporto e recapitati al Laboratorio di riferimento regionale nel rispetto delle indicazioni contenute nell'allegato 3. Per l'invio si utilizzerà la scheda di segnalazione di caso di malattia da West Nile virus (allegato n. 6).

Il laboratorio di riferimento regionale procederà agli accertamenti analitici come indicato nel successivo paragrafo 2.2.4

Il medico curante, inoltre, dovrà segnalare tempestivamente (entro 12 ore) i casi, anche solo sospetti, al DSP territorialmente competente attraverso l'invio della scheda di segnalazione di caso di malattia da West Nile virus, sopra citata, e della consueta scheda di segnalazione di caso di malattia infettiva SSCMI/2006.

Il DSP inserirà i dati nel sistema informativo malattie infettive (SMI) una volta in possesso degli esiti di laboratorio.

Qualora tali esiti permettano di definire il caso come confermato o probabile, oltre all'inserimento tempestivo in SMI, max entro 24 ore, il DSP dovrà inviare al Servizio regionale di Sanità pubblica copia della scheda di segnalazione di caso di malattia da West Nile virus debitamente compilata.

Qualora il caso non possa essere classificato come da West Nile virus, il DSP lo inserirà in SMI:

- come meningite, encefalite, meningoencefalite, ecc. da causa specificata, utilizzando il codice ICD proprio del microrganismo in causa, qualora sia stato identificato un altro agente eziologico,

o

- come meningite, encefalite, meningoencefalite, ecc. da causa non specificata, qualora nessun agente eziologico sia stato identificato.

Trascorsi 30 giorni dalla segnalazione di un caso confermato o probabile di WNND, il DSP dovrà aggiornare i dati in SMI e rimandare in Regione la scheda di segnalazione compilata in ogni sua parte e con gli esiti del follow-up.

Non è prevista l'attivazione della sorveglianza attiva sulle forme cliniche NON neuroinvasive, come ad esempio le febbri da WNV. Qualora queste venissero diagnosticate e segnalate andranno inserite nel programma SMI utilizzando il codice specifico della febbre da West Nile.

Per quanto riguarda l'informazione nei confronti di persone esposte a rischio documentato di trasmissione del virus, si rimanda al paragrafo 2.d.

IV. Sorveglianza virologica

Campioni animali

Il laboratorio regionale di riferimento per la sorveglianza di campioni animali è il Laboratorio entomologico della sezione IZSLER di Reggio Emilia.

Sorveglianza virologica entomologica

Sui campioni raccolti nell'ambito della sorveglianza entomologica viene attivata una ricerca di virus:

sui pool zanzare del genere *Culex* si eseguono PCR Flavivirus, WNV e USUV con risposta urgente entro 7 gg lavorativi dalla data di conferimento al laboratorio. Le positività di genere verranno sempre corredate di sequenza per stabilire il ceppo virale coinvolto;

sui pool di zanzare di altre specie, ritenute a basso rischio di trasmissione di WNV, verranno eseguite indagini arbovirologiche di altra natura, definite sulla base di una valutazione che tenga conto della specie, della relativa abbondanza della provenienza e del periodo di campionamento.

Sorveglianza virologica ornitologica

Su tutti gli uccelli ricevuti si eseguono PCR Flavivirus, WNV e USUV con risposta urgente entro 10 gg lavorativi dalla data di conferimento alla Sezione provinciale dell'IZSLER, competente per il luogo di cattura; si inviano al CESME i positivi WNV per conferma.

Campioni umani

Il laboratorio di riferimento regionale, contemporaneamente agli accertamenti per la infezione da virus West Nile, esegue anche quelli per la infezione da Toscana virus. Qualora tali esami diano esito negativo, il Laboratorio esegue in sequenza ulteriori indagini finalizzate a evidenziare altri agenti eziologici (Usutu virus; TBE virus, allorché i criteri clinici e/o anamnestici lo suggeriscano; etc.) responsabili di malattie neuroinvasive.

Il laboratorio provvederà ad identificare, quando possibile, il lineage del virus dei casi confermati di malattia da WNV al fine di meglio caratterizzare la circolazione virale nel nostro territorio.

c. Interventi da realizzare in relazione a scenari di rischio

Alla luce dell'esperienza maturata negli anni precedenti si confermano la definizione di area e la gradualità delle azioni di prevenzione e controllo definite sulla base del livello di rischio così come indicato nella tabella seguente.

Per quanto riguarda la sicurezza del sangue, nella Regione Emilia-Romagna, in considerazione dello specifico sistema integrato di sorveglianza entomologica, veterinaria e umana e delle valutazioni di efficacia e costo-efficacia del sistema, si propone che l'adozione degli interventi di controllo del sangue, in ogni provincia, avvenga a seguito anche di un solo campione risultato positivo al virus West Nile, garantendo così la maggiore sensibilità possibile al sistema di sorveglianza. I provvedimenti verranno adottati sulla base degli esiti analitici dei laboratori di riferimento regionali.

Le attività di sorveglianza attiva delle donazioni di sangue ed emocomponenti saranno interrotte il 31 ottobre a meno che il sistema integrato di sorveglianza (entomologica, ornitologica) non continui a rilevare circolazione virale.

Tab. 5 - Interventi da realizzare in relazione a scenari di rischio

Area	Livello rischio	Probabilità di epidemia	Specifiche dell'area	Azioni
Predisposta	1a	sconosciuta	§ condizioni ecologiche idonee alla circolazione di West Nile (tutta la zona di pianura e pedecollinare della nostra Regione)	§ Mantenere il sistema di sorveglianza attiva (entomologica e/o ornitologica) implementato dal 2010 (vedi paragrafo 2.2.1 e 2.2.2 del presente Piano sorveglianza arbovirosi 2013)

			§ Area a rischio di cui all'OM 4.8.2011	§ Mantenere il sistema di sorveglianza passiva sugli equidi (vedi paragrafo 2.2.2) § Mantenere il sistema di sorveglianza sui casi umani di sindrome neurologica (vedi paragrafo 2.2.3)
Predisposta	1b	sconosciuta	§ area in cui si sono registrati casi umani e/o equini nell'anno precedente § Area a circolazione virale di cui all'OM 4.8.2011	§ Come livello di rischio 1a § La Regione, con il supporto del Gruppo di entomologia sanitaria, valuta: <ul style="list-style-type: none"> ○ attivazione lotta antilarvale ○ sensibilizzazione delle Autorità sanitarie locali sull'opportunità di attivare la lotta antilarvale ○ sensibilizzazione dei proprietari di cavalli a prevenire la malattia attraverso la vaccinazione
A rischio	2a	bassa	§ La sorveglianza entomologica e/o ornitologica indica circolazione di WNV nella seconda parte della stagione (Agosto-Settembre-Ottobre), anche in un unico campione	§ Come livello di rischio 1b § La Regione attiva un piano di comunicazione su protezione personale e lotta antilarvale in ambito privato e informa i Centri nazionali sangue e trapianti al fine di adottare i provvedimenti di controllo sulle donazioni
A rischio	2b	moderata	§ La sorveglianza entomologica e/o ornitologica indica circolazione di WNV nella prima parte della stagione (Maggio-Giugno-Luglio) anche in un unico campione	§ Come livello di rischio 2a § La Regione, attraverso il supporto del Gruppo di entomologia sanitaria, incrementa l'attività di sorveglianza § La Regione potenzia le attività di comunicazione e informa i Centri nazionali sangue e trapianti al fine di adottare i provvedimenti di controllo sulle donazioni § Se la sorveglianza indica aumento di circolazione virale il Gruppo entomologia sanitaria valuta l'eventualità e le caratteristiche di un piano di lotta al vettore.
Affetta	3a	Casi sporadici	§ La sorveglianza indica intensa attività epizootica e/o viene rilevato primo caso equino o umano di malattia neuroinvasiva	§ Come livello di rischio 2b § Con il supporto del Gruppo regionale di entomologia sanitaria le Autorità sanitarie locali attuano o intensificano la lotta adulticida nelle zone a rischio più elevato
Affetta	3b	Epidemia in corso	§ 30 casi equini e umani sparsi o 10 casi rilevati in un'area di 500 km ² di malattia neuroinvasiva	§ Come livello di rischio 3a § La Regione incrementa le attività di comunicazione § Il Gruppo di entomologia sanitaria condurrà verifiche di efficacia dei trattamenti antivettoriali § La Regione istituisce ed attiva un'unità di emergenza

d. Informazione nei confronti di persone esposte a rischio documentato di trasmissione del virus

Nei territori nei quali viene evidenziata circolazione virale, a maggior ragione se è dimostrata la presenza di zanzare infette, va potenziata l'informazione affinché le persone che vi vivono o lavorano adottino le misure più idonee a ridurre il rischio di essere punte (vedi successivo capitolo 4) e per permettere una diagnosi tempestiva di eventuali casi clinici. L'informazione deve raggiungere, direttamente o attraverso i MMG, i PLS, gli specialisti, le Associazioni dei malati, ecc., in particolare le persone a rischio più elevato di sviluppare la malattia neuro invasiva quali gli anziani e gli immunodepressi.

e. Vaccinazione degli equidi

L'uso della vaccinazione permette di proteggere dalla malattia i soggetti a rischio. Sono stati prodotti e autorizzati vari vaccini per il WNV per l'uso nei cavalli, questi vaccini hanno dimostrato una sufficiente efficacia e sicurezza nei cavalli adeguatamente vaccinati. In Italia, in attuazione all'art 6 dell'O.M. del 4 agosto 2011 e successive modifiche è possibile vaccinare, con spese a carico del proprietario, gli equidi con prodotti registrati. L'avvenuta vaccinazione deve essere comunicata alla Azienda USL competente da parte del veterinario ippiatra.

f. Lotta al vettore

Il ruolo della lotta al vettore di WNV deve essere commisurato al livello di rischio sanitario evidenziato dalla sorveglianza. Nell'ottica di salvaguardare la salute pubblica e contemporaneamente limitare l'impatto ambientale connesso alle attività di lotta al vettore, le indicazioni regionali si basano principalmente sulla lotta integrata antilarvale. La lotta contro le larve, infatti, previene lo sviluppo dello stadio adulto, causa della molestia e responsabile della trasmissione virale, garantendo nello stesso tempo un impatto ambientale contenuto.

Alla lotta adulticida è invece riservato un ruolo di emergenza, quindi da attivare solamente in situazioni straordinarie, in presenza di rischio sanitario accertato (Livello 2b e 3 della tabella precedente) o nelle situazioni in cui è in corso una epidemia.

Tali indicazioni sono illustrate più approfonditamente nelle "Linee guida regionali per la lotta integrata alle zanzare vettrici del Virus West Nile – indicazioni tecniche alle Aziende Usl e ai Comuni" (Allegato 9 al Piano regionale 2013 trasmesso con note PG/2013/152704 e PG/2013/152705) scaricabili dal sito www.zanzaratigreonline.it al link <http://bit.ly/1Hv9E2O>.

g. Impatto della circolazione virale WN sulle donazioni di sangue e trapianti

Le misure nei confronti delle donazioni di sangue e di organi e tessuti sono di competenza, rispettivamente, del Centro Nazionale Sangue e del Centro Nazionale Trapianti.

Come già indicato al punto 2.c, la Regione Emilia-Romagna propone di attivare, in ciascuna provincia, gli interventi di controllo del sangue al primo segnale di circolazione virale e cessarli al 31 ottobre a meno che il sistema integrato di sorveglianza (entomologica, ornitologica) non continui a rilevare circolazione virale.

I Servizi regionali della Direzione generale Sanità e Politiche sociali collaborano con le Strutture regionali di coordinamento che fanno capo ai Centri suddetti, in particolare fornendo dati di sorveglianza sulla circolazione virale e valutazioni sul rischio di trasmissione attraverso la donazione di emocomponenti labili, organi e tessuti. I Centri

regionali sangue e trapianti trasmettono al Servizio regionale Sanità pubblica, tempestivamente e con continuità, il numero e i risultati dei controlli eseguiti sui donatori che hanno soggiornato in aree a circolazione virale o dove si sono manifestati casi di malattia neuroinvasiva nell'uomo o in relazione alle disposizioni nazionali.

h. Bollettino epidemiologico sulla circolazione di WNV

I risultati della attività di sorveglianza integrata, umana, veterinaria ed entomologica, della malattia di West Nile, anche per l'anno 2015, saranno periodicamente riportati sul bollettino redatto dal Reparto di Sorveglianza Epidemiologica Emilia-Romagna (SEER) dell'IZSLER, che verrà diffuso agli enti interessati per il tramite del Servizio Veterinario e Igiene degli Alimenti della Regione Emilia-Romagna.

3. Altre Arbovirosi

Al momento attuale si conoscono oltre 100 virus classificati come Arbovirus, in grado di causare malattia nell'uomo. La maggior parte di questi sono stati classificati in famiglie e generi di cui i Togaviridae (Alphavirus), i Flaviridae (Flavivirus) e i Bunyaviridae (Bunyavirus e Phlebovirus) sono i più noti. Oltre a quelli inseriti nel presente Piano quindi, altri arbovirus, sia autoctoni, sia di possibile importazione, possono essere causa di malattia e devono essere presi in considerazione per la diagnosi. In Tabella 6 ne sono elencati alcuni di particolare rilevanza.

Informazioni aggiornate su focolai epidemici di arbovirosi nel mondo, responsabili di eventuali casi importati anche in Italia, possono essere reperite sui siti web:

- del Ministero della salute (http://www.salute.gov.it/portale/temi/p2_6.jsp?lingua=italiano&id=1983&area=Malattie%20infettive&menu=viaggiatori),
- dell'ECDC (http://ecdc.europa.eu/en/publications/surveillance_reports/evd/Pages/evd.aspx),
- del WHO (<http://www.who.int/csr/don/en/>),
- del CDC (<http://wwwnc.cdc.gov/travel/diseases>),
- su quello di Promed (<http://www.promedmail.org/>),
- e, infine, per Zika virus su: http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/20/6/et-2006_article; http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/zika_virus_infection/Pages/index.aspx.

Tab. 6 - Altri Arbovirus responsabili di infezioni nell'uomo

Arbovirus	Classificazione	Autoctono in Italia/aree a rischio	Sintomatologia/forme cliniche
Virus Toscana	Famiglia <i>Bunyaviridae</i> , genere <i>Phlebovirus</i> .	Autoctono / Paesi del bacino del Mediterraneo	Febbre, meningite, meningoencefalite.
Virus dell'encefalite da zecca (TBE)	Famiglia <i>Flaviviridae</i> , genere <i>Flavivirus</i> .	Autoctono / Presente in molte aree di Europa (in particolare: Austria, Repubblica Ceca, Estonia, Germania, Ungheria, Latvia, Lituania, Polonia, Slovenia, Svezia,	L'andamento della malattia è tipicamente bifasico, con una sindrome febbrile seguita in alcuni casi dalle manifestazioni neurologiche (meningite, encefalite, meningoencefalite), con possibili sequele a lungo

		Svizzera) e Asia (in particolare: Cina, Giappone, Mongolia, Corea del Sud).	termine.
Virus USUTU	Famiglia <i>Flaviviridae</i> , genere <i>Flavivirus</i> .	Autoctono / Europa e Africa	Possibile associazione con forme neuro invasive.
Virus dell'encefalite Giapponese (JEV)	Famiglia <i>Flaviviridae</i> , genere <i>Flavivirus</i> .	Asia	Febbre, mal di testa, vomito, stato confusionale, difficoltà motorie; in alcuni casi si sviluppa encefalite e coma.
Virus Rift Valley Fever (RVFV)	Famiglia <i>Bunyaviridae</i> , genere <i>Phlebovirus</i> .	Africa	I sintomi, quando presenti, sono generalmente lievi e includono febbre, debolezza, mal di schiena, vertigini. In alcuni casi più gravi si possono avere anche emorragie, e coinvolgimento neurologico.
Virus della Febbre Gialla (YFV)	Famiglia <i>Flaviviridae</i> , genere <i>Flavivirus</i> .	Alcune aree di Sud-America e Africa	Febbre, brividi, mal di testa, mal di schiena, dolori muscolari. In circa il 15% dei casi si può avere un grave coinvolgimento epatico e manifestazioni emorragiche.
Hantavirus (trasmessi da roditori selvatici e domestici)	Famiglia <i>Bunyaviridae</i> , genere <i>Hantavirus</i>	Estremo Oriente, Balcani, penisola scandinava, Russia, continente Americano.	Le forme "classiche" sono caratterizzate da febbre, cefalea, stato letargico, dolori addominali e lombari, fotofobia, petecchie, a cui possono poi seguire emorragie multiple e coma. In altri casi, si ha prevalente interessamento a carico dell'apparato respiratorio e insufficienza respiratoria acuta.
Virus Zika	Famiglia <i>Flaviviridae</i> , genere <i>Flavivirus</i> .	Africa, Asia, Polinesia Francese	Febbre, congiuntivite, artrite, artralgia transitoria e rash maculopapulare.

Qualora si verificassero casi, anche solo sospetti, di queste arbovirosi il DSP deve darne immediata notizia ai Servizi regionali attraverso l'inserimento dei dati nel sistema informativo delle malattie infettive (SMI) e l'invio di un ALERT .

Per i casi probabili/confermati di malattia da Zika virus, oltre all'aggiornamento di SMI, max entro 24 ore, va completata l'informazione con l'invio al Servizio regionale di Sanità pubblica delle singole schede individuali di notifica e sorveglianza di caso di Chikungunya/Dengue/Zika virus (allegato 4) e anche della scheda di segnalazione di cluster autoctono (allegato 5) se ci si trova in tale situazione.

In presenza di casi o di cluster autoctoni, inoltre, dovrà essere predisposta una relazione epidemiologica esaustiva da inviare al Servizio Sanità pubblica della Regione.

Per le forme cliniche da virus Toscana, si confermano, inoltre, la scheda di indagine epidemiologica (allegato 7) e il flusso informativo adottati a partire da agosto 2010.

Per le arbovirosi per le quali non è attivo un sistema di sorveglianza specifico, la raccolta di eventuali ulteriori informazioni epidemiologiche e le azioni nei confronti dei vettori e/o dei reservoir verranno decise al verificarsi dei casi, in accordo con il Servizio Sanità pubblica della Regione.

Il CRREM è in grado di eseguire:

- la sierologia e la ricerca dell'acido nucleico virale per Toscana virus, USUTU virus, Zika virus e TBE virus,
- la sierologia per YFV, JEV e RVFV.

4. Prevenzione delle punture di zanzara nell'uomo

L'adozione di misure idonee a ridurre il disagio dovuto alle punture di zanzara è consigliata a prescindere dal rischio di trasmissione del virus West Nile (basta la presenza di zanzare).

L'approccio alla prevenzione contro le punture di zanzara è influenzato dal livello di protezione necessaria in una specifica situazione e può essere richiesto, associare più misure protettive, in funzione di un'alta concentrazione di vettori.

Le misure di protezione, di seguito sintetizzate, vanno applicate in particolare nelle ore serali-notturne tenuto conto delle abitudini crepuscolari della zanzara domestica, *Culex pipiens*, vettore acclarato del virus West Nile.

All'interno delle costruzioni

- § Quando possibile, utilizzare il condizionatore.
- § Quando non è possibile l'uso del condizionatore, schermare porte e finestre con zanzariere o reti a maglie strette ovvero tenerle chiuse in caso si sia dotati di condizionamento; per la protezione di culle e lettini possono essere utilizzati anche veli di tulle di cotone.
- § È possibile utilizzare apparecchi elettroemanatori di insetticidi liquidi o a piastrine o zampironi, ma sempre con le finestre aperte.
- § In presenza di zanzare all'interno delle abitazioni, si può ricorrere a prodotti a base di estratto o derivati del piretro (in commercio in bombolette spray), insetticida a rapida degradazione, in particolare dopo ventilazione dell'ambiente.

Per attività all'aperto

- § Si consiglia di indossare indumenti di colore chiaro che coprano il più possibile (con maniche lunghe e pantaloni lunghi).
- § Evitare i profumi, le creme e i dopobarba che attraggono gli insetti.
- § È possibile **utilizzare repellenti cutanei per uso topico**.
 - Questi prodotti vanno applicati sulla cute scoperta, compreso il cuoio capelluto, qualora privo di capelli.
 - Per trattare il viso dispensare il prodotto sul palmo delle mani e attraverso queste portare il prodotto sul viso; in seguito lavare le mani.
 - I repellenti non vanno applicati sulle mucose (labbra, bocca), sugli occhi, sulla cute irritata o ferita.

- Possono essere eventualmente spruzzati sui vestiti per aumentare l'effetto protettivo.
- Adottare grande cautela nell'utilizzo nei bambini. Evitare di fare applicare il repellente direttamente da un bambino perché il prodotto potrebbe giungere in contatto con occhi e bocca. È consigliabile che il bambino tenga gli occhi chiusi e trattenga il respiro mentre un adulto cosparge il repellente.
- Non utilizzare repellenti nei bambini al di sotto di tre mesi di vita.
- Nei bambini con età compresa tra 2 mesi e 3 anni non utilizzare repellenti ma applicare eventualmente repellenti solo sulla parte esterna dei capi di abbigliamento, nelle parti che non possano essere succhiate.
- In letteratura non sono disponibili raccomandazioni o precauzioni supplementari per l'utilizzo su donne in gravidanza o in allattamento; si rinvia pertanto a quanto dichiarato dai produttori. In ogni caso bisogna seguire scrupolosamente le indicazioni, fornite dal fabbricante, riportate sulla confezione.
- Non è raccomandato l'impiego di prodotti combinati che contengono sia fattori di protezione contro il sole sia prodotti repellenti contro le zanzare per rischio di utilizzo improprio o eccessivo.
- La durata della protezione dipende dalla concentrazione del principio attivo nel prodotto: i prodotti con una concentrazione più elevata proteggono per un periodo più lungo. In genere la durata della protezione è accorciata in caso di aumento della sudorazione ed esposizione all'acqua.

§ Le persone che svolgono attività professionali all'aperto in orario serale-notturno con particolare esposizione alle punture, in zone ad alta concentrazione di vettori potrebbero **trattare gli abiti con permetrina** (0,5 gr/m²).

- Lo spray è da riservare agli indumenti, non va utilizzato sulla cute.
- Occorre irrorare gli abiti su entrambi i lati e lasciare asciugare prima di indossare (24-48 ore prima).
- Il trattamento è generalmente efficace per una settimana.
- L'uso di permetrina spray sugli abiti può essere associato all'impiego di repellenti cutanei.

L'adozione delle misure sopra descritte va:

- § rinforzata allorché sia dimostrata la presenza del virus nel vettore (livello di rischio 2b)
- § raccomandata al verificarsi di casi di malattia nell'uomo e/o negli equidi (livello di rischio 3a)

Si riportano di seguito le principali caratteristiche e le concentrazioni consigliate dei repellenti cutanei **(tali prodotti non sono efficaci contro punture da imenotteri, formiche o ragni, che pungono per difesa).**

Prodotti con più fonti bibliografiche

DEET - dietiltoluamide

È presente in commercio a varie concentrazioni dal 7 al 33,5%. È utile nella maggior parte dei casi, e come per tutti i repellenti cutanei, deve essere utilizzato solo come indicato sulla confezione del prodotto.

Una concentrazione media di 24% conferisce una protezione fino a 5 ore. La disponibilità di DEET microincapsulato consente l'impiego di una minore concentrazione del prodotto e un prolungamento della durata d'azione.

I prodotti disponibili al momento in commercio non sono generalmente destinati all'impiego nei bambini: il DEET è indicato per soggetti al di sopra dei 12 anni, anche se la letteratura riporta un eventuale impiego nei bambini solo qualora consentito dal fabbricante. Tale impiego deve avvenire con la massima cautela a causa di possibili eventi neurotossici, in particolare in caso di utilizzo ripetuto improprio.

Non sono disponibili studi sull'impiego di DEET nel primo trimestre di gravidanza. Un eccessivo assorbimento del prodotto attraverso la pelle può causare dermatiti, reazioni allergiche o, anche se raramente, neurotossicità.

Il DEET può danneggiare materiale plastico e abbigliamento in fibre sintetiche.

Il DEET può ridurre l'efficacia di filtri solari; in caso di necessità, utilizzare prima la crema solare poi il repellente.

È efficace anche contro le zecche e le pulci.

Picaridina/icaridina (KBR 3023)

Ha protezione sovrapponibile al DEET. I prodotti in commercio hanno una concentrazione tra 10 e 20% ed efficacia di circa 4 ore o più.

Ha un minore potere irritante per la pelle rispetto al DEET.

Sono disponibili in commercio prodotti destinati anche ai bambini, ma per l'uso occorre attenersi alle indicazioni del fabbricante.

Non degrada la plastica e non macchia i tessuti.

È efficace anche contro le zecche.

Prodotti con minori fonti bibliografiche

Citrodiol (PMD)

Ha una efficacia inferiore al DEET e una durata di effetto inferiore (tre ore circa).

È irritante per gli occhi e non deve essere utilizzato sul viso.

Porre attenzione all'uso nei bambini, qualora previsto dal produttore, per il rischio di tossicità oculare.

IR3535 (ethyl butylacetylaminopropionate).

Alla concentrazione del 7,5% conferisce protezione per 30 minuti.

Principali fonti bibliografiche consultate:

- Prevention of arthropod and insect bites: Repellents and other measures, Nancy L Breisch, Jun 27, 2013. UpToDate (http://www.uptodate.com/contents/prevention-of-arthropod-and-insect-bites-repellents-and-other-measures?source=search_result&search=Prevention+of+arthropod+and+insect+bites%3A+Repellents+and+other+measures&selectedTitle=5%7E150)
- <http://www.healthychildren.org/English/safety-prevention/at-play/Pages/Insect-Repellents.aspx>
- <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa011699>
- Comparative Efficacy of Insect Repellents against Mosquito Bites. Mark S. Fradin, M.D., and John F. Day, Ph.D. N Engl J Med 2002; 347:13-18 July 4, 2002 DOI: 10.1056/NEJMoa011699
- <http://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2014/chapter-2-the-pre-travel-consultation/protection-against-mosquitoes-ticks-and-other-insects-and-arthropods>
- <http://www.cdc.gov/westnile/faq/repellent.html>
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4173961/>. Preventing mosquito and tick bites: A Canadian update.
- <http://cfpub.epa.gov/oppref/insect/> U.S. Environmental Protection Agency. updated 2013. Insect repellents use and effectiveness.