PROVIDENT

STEPS FORWARD FOR DIGITAL AND REAL TIME SURVEILLANCE OF INFECTIOUS DISEASES IN ITALY

Report on state of the art and needs analysis of surveillance systems for infectious diseases in Italy

Deliverable 4.1 – Work package 4

Cofinanziato dall'Unione europea

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

Rapporto sullo stato dell'arte e sulle principali criticità dei sistemi di sorveglianza delle malattie infettive in Italia

Deliverable 4.1 – Work package 4

Cofinanziato dall'Unione europea

Disclaimer

Cofinanziato dall'Unione Europea nell'ambito del Programma EU4Health – Grant Agreement n. 101183197. Le opinioni e i punti di vista espressi appartengono, tuttavia, esclusivamente al solo o ai soli autori e non riflettono necessariamente le opinioni dell'Unione Europea o dell'Agenzia esecutiva europea per la salute e il digitale (HADEA). Né l'Unione Europea né l'autorità concedente possono essere ritenute responsabili di tali contenuti.

This is a public deliverable of the project:

PROVIDENT - StePs foRward fOr digital and real time surVeillance of Infectious DiseasEs iN ITaly

Work Package 4: Improvement of Infrastructures and Capacity building

Project Leader: Anna Teresa Palamara, ISS; Deputy Project Leader: Fortunato Paolo D'Ancona, ISS

WP Leader: Marco Lalle, ISS; Deputy WP Leader: Simone M. Cacciò, ISS.

Task Leader: Marco Lalle, ISS; Deputy Task Leader: Simone M. Cacciò, ISS.

Contacts: Marco Lalle, marco.lalle@iss.it; Simone M. Cacciò simone.caccio@iss.it

Document control page

TITLE OF THE MILESTONE	Report on state of art and needs analysis
RESPONSIBLE PARTNER	ISS
ID OF THE ACTION	EU4H-PJG
PROJECT ID	101183197
TOPIC	EU4H-2023-DGA-MS-IBA-01
STARTING DATE	1 January 2025
DURATION	48 month
WP NUMBER	4
AUTHOR(S)	Marco Lalle (ISS), Antonello Amendola (ISS), Antonino Bella (ISS), Gioia Bongiorno (ISS), Roberto Bruni (ISS), Simone M. Cacciò (ISS), Romina Camilli (ISS), Anna Rita Ciccaglione (ISS), Fortunato D'Ancona (ISS), Aurora Garcia Fernandez (ISS), Maria Del Grosso (ISS), Martina Del Manso (ISS), Marco Di Luca (ISS), Giulia Errico (ISS), Claudia Fortuna (ISS), Mariangela Giufrè (ISS), Claudia Lucarelli (ISS), Giulia Marsili (ISS), Alberto Mateo Urdiales (ISS), Michela Menegon (ISS), Monica Monaco (ISS), Arianna Neri (ISS), Patrizio Pezzotti (ISS), Chiara Sacco (ISS), Francesco Severini (ISS), Paola Stefanelli (ISS), Elisa Taviani (ISS), Luciano Toma (ISS), Giulietta Venturi (ISS), Francesco Venuti (ISS), Laura Villa (ISS)
CONTRIBUTORS	PROVIDENT consortium
DATE OF PUBLISHING	30/04/2026
TYPE	Report
DISSEMINATION LEVEL	Public
VERSION	V1.0
AUDIENCE	Project Management Team ☒ Communication Team ☒

	Scientific Steering Board ☒ National Stakeholders/Program Owners Committee ☒ EFSA ☒ ECDC ☒ Social Media: ISS website Other recipient(s): Regional and National Health System

1. Table of contents

1.Table of contents 5

Executive summary 7

Background 10

Introduzione 11

1.**Arbovirosi** 12

Background e analisi delle criticità 12

Attività 1: Sviluppo e attuazione di procedure operative e attività di formazione su misura per soddisfare esigenze specifiche 15

Attività 2: Distribuzione di controlli positivi per la diagnostica molecolare 15

2.**Vettori e Malattie Trasmesse da Vettori (MTV)** 17

Background e analisi delle criticità 17

Attività 1: Rafforzamento della rete di sorveglianza entomologica e dei patogeni correlati: 20

Attività 2: Formazione 20

Attività 3: Indagine pilota 21

3.**Epatiti virali emergenti (HEV) e ri-emergenti (HAV)** 22

Background e analisi delle criticità 22

Attività 1: Potenziare la capacità di sorveglianza di HAV e HEV attraverso la condivisione di procedure operative standard e attività di formazione online 26

Attività 2: Pianificare uno studio inter-laboratorio per l'armonizzazione dei test di caratterizzazione molecolare 26

4.**Malattie batteriche invasive** 28

Background e analisi delle criticità 28

Attività 1: Potenziamento delle capacità di tipizzazione microbiologica nei laboratori ospedalieri che attualmente non effettuano l'identificazione del sierogruppo/sierotipo per i tre patogeni. 31

Attività 2: Attività di informazione e divulgazione per migliorare l'adesione alla sorveglianza. 31

5.**Patogeni batterici enterici (Sorveglianza Enter-Net Italia)** 32

Background e analisi delle criticità 32

6.**Resistenza agli antimicrobici (AMR)** 35

Background e criticità 35

7.**Epidemiologia** 37

Background e criticità 37

Le "Sorveglianze Speciali" 37
Processo di valutazione e ottimizzazione 37
Attività 1: Completamento della valutazione delle sorveglianze 39
Attività 2: Migrazione dei sistemi di sorveglianza e formazione 39
8. **Protozoi parassiti gastrointestinali** 41
Background e criticità 41
Attività 1: Creazione di una rete di laboratori di competenza regionali 44
Attività 2: Formazione 44
Attività 3: Test di competenza (Prove Valutative Interlaboratorio, PVI) 45
Attività 4: Indagine pilota 45

Executive summary

The PROVIDENT project aims to address the general need to strengthen the surveillance of infectious diseases in Italy by enhancing the timeliness of data uploading by diagnostic laboratories and the integration of results from different sources.

In Italy, the surveillance system of infectious diseases is composed of the national notification system and by dedicated surveillance systems. The dedicated surveillance systems are designed for specific purposes but there is an evident lack of harmonisation among the different systems. In 2022 a new national notification system was established (PREMAL). In addition to PREMAL, there are good web-based systems, including those for surveillance of AMR or of invasive bacterial diseases (MaBI), which allow yearly collection of notification data from diagnostic laboratories. However, this is not sufficient to generate a continuous, automated, integrated surveillance and, where required, real-time digital data stream that could provide the right information where and when it is needed to fight cross border threats most timely and effectively. Both PREMAL and web-based systems are based on manual data entry, and therefore require time and human resources, finally impacting the timeliness of information.

For many well-known pathogens, advanced surveillance systems are well working and produce accurate and complete data. However, for emerging or neglected pathogens, data are lacking or do not cover the entire country, due to under-diagnosis and under notification.

The work package 4 (WP4) focuses on providing technical support and training to microbiological laboratories to reduce under-diagnosis and under-reporting, therefore strengthening the advanced surveillance systems and helping to establish new surveillance systems, especially in the areas of parasitology and entomology.

In the context of WP4 activities, a detailed analysis has been conducted to i) highlight limitations in the current surveillance systems and identify appropriate improvement strategies; ii) define the requirements to establish a long-term sustainable surveillance system for those pathogens that are currently not monitored or for which monitoring is incomplete. The relevant information has been acquired by literature searches and/or by structured questionnaires. Based on the information collected, specific activities have been planned to address the major gaps. The essential outcomes of the gap analysis and the activities planned to address the major gaps identified are presented below for single pathogens, or group of pathogens, for the sake of clarity.

Arboviral diseases

Arboviral diseases are an increasing public health threat in Italy and Europe, with expanding circulation and emerging autochthonous transmission. Despite widespread molecular diagnostic capacity, important gaps remain in standardization, confirmatory testing and access to advanced technologies. A national survey of 52 laboratories identified these gaps and supports targeted actions to strengthen and harmonize diagnostic systems.

Arboviral diseases are an increasing public health threat in Italy and Europe, with expanding circulation and emerging autochthonous transmission. Despite widespread molecular diagnostic capacity, a national survey of 52 laboratories identified important gaps in standardization, confirmatory testing and access to

advanced technologies. To address these issues, the planned activities include the sharing and harmonization of diagnostic algorithms and analytical protocols, and the organization of ring trials.

Vectors and Vector-borne diseases (VBDs)

Vector-borne diseases are infections caused by viruses, bacteria, and protozoa transmitted by arthropods such as mosquitoes, sand flies, and ticks. In Italy, they are an increasing public health concern due to the presence of local vectors, international travel, and climate change. Mosquito-borne diseases are the most relevant: West Nile virus is now endemic, while dengue, Zika, and chikungunya are mostly imported, but may cause local outbreaks. Sand flies transmit Leishmania infantum, responsible for zoonotic leishmaniasis, and phleboviruses, among them the endemic Toscana virus, causing summer meningitis. Ticks transmit several pathogens, including tick-borne encephalitis, endemic in northeastern Italy. Surveillance is regulated by a National plan for arboviruses and Ministerial Circulars and is well established for some diseases, especially West Nile, but surveillance gaps can be identified for others. A national survey showed that mosquitoes are the most studied vectors, followed by ticks, while sand flies are less monitored. Common vector–pathogen associations include Culex pipiens with West Nile virus and Ixodes ricinus with multiple pathogens. Although surveillance systems are advanced, some challenges could be identified: uneven geographic coverage, poor coordination, insufficient monitoring of some vectors, and limited use of advanced diagnostic technologies. To address these issues, new activities include strengthening surveillance networks, training laboratories, and conducting pilot studies in selected regions.

Emerging (HEV) and re-emerging (HAV) hepatitis viruses

Hepatitis A and E are considered re-emerging and emerging infectious diseases, respectively. To evaluate the actual capacity of laboratories to diagnose HAV and HEV infections and characterize the involved strains, we designed a national survey. Overall, 102 laboratories distributed across all Italian regions participated in the survey. The main gaps identified were the paucity of HAV and HEV molecular characterization, a need to provide molecular support as well as to implement homogeneous protocols for molecular characterization of these viruses. These gaps will be addressed by planned activities aimed at implementing and strengthening a structured network for HAV and HEV surveillance.

Invasive bacterial diseases (MaBI)

Within the scope of the project's activities, a survey was conducted to identify gaps in the microbiological typing capabilities for bacteria involved in invasive diseases (i.e. *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* type b, and *Streptococcus pneumoniae*). The survey, involving 25 laboratories, revealed some critical issues regarding the identification of serogroups/serotypes. To address these issues, the planned activities include the sharing of protocols for serotyping, technical support and dedicated training activities (on request) for those structures that currently do not perform serotyping. Finally, a National workshop on MaBI surveillance will be organized.

Food and water-borne diseases (Enter-Net Italia)

Food and water-borne diseases are an important public health threat in Italy and Europe, with more than 6558 food-borne outbreaks in 2024 in EU. The national surveillance system, Enter-Net Italia, collects epidemiological and microbiological data on human isolates of *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia*,

Shigella and *Vibrio*. It is necessary to implement surveillance at the regional level in areas where it has not yet been established for each of the following enteric pathogens (*Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *Shigella* and *Vibrio*), and to extend existing systems where coverage is currently limited to only some of these pathogens. Activities have been planned to address these issues.

Antimicrobial resistance (AMR)

In Italy, the antimicrobial resistance (AMR) surveillance system (AR-ISS), coordinated by ISS, is well established and integrated with European and global networks. However, challenges remain in terms of a lack of digitalization/automation, interoperability of laboratory systems/platforms for AMR data collection and analysis, rapid alert reporting system for multidrug-resistant organisms (MDROs), regional heterogeneity and genomic surveillance. A planned activity aiming at integrating Italian EHR-BSI protocol into the AR-ISS protocol will enhance the timeliness and overall quality of surveillance data, with feasibility assessment and pilot implementation scheduled between 2026 and early 2027.

Epidemiology

As part of the project activities to strengthen infectious disease surveillance, the Epidemiology Unit will conduct a review of the current surveillance systems managed by the Ministry of Health and the Istituto Superiore di Sanità. This work will optimize data flows, reduce data gaps and avoid redundancies, and will result in a unified normative framework to regulate surveillance systems in accordance with pathogen specific characteristics.

Gastrointestinal protozoa parasites

The gastrointestinal diseases cryptosporidiosis and giardiasis have been included only recently (2023) in the list of notifiable infectious diseases in PREMAL, and an active surveillance system is not yet in place. Therefore, robust information on the public health impact of these diseases in Italy is scarce. A national survey of 196 laboratories for the identification of major gaps, including incomplete geographic coverage and a lack of molecular data describing the circulating species and genotypes. These gaps will be addressed by planned activities aimed at establishing a network of laboratories with increased and harmonized molecular diagnostic capacities.

Background

Il Progetto PROVIDENT intende rafforzare la sorveglianza delle malattie infettive in Italia intervenendo sulla tempestività nella comunicazione dei dati da parte dei laboratori diagnostici e sulle modalità di integrazione dei risultati provenienti da diverse fonti.

Il Work package 4 (WP4) di PROVIDENT si pone come obiettivi il rafforzamento dei sistemi di sorveglianza avanzati e lo sviluppo di nuovi sistemi di sorveglianza, in particolare nelle aree della parassitologia e dell'entomologia, attraverso attività di supporto tecnico e programmi di formazione indirizzati ai laboratori di microbiologia, al fine di migliorare la diagnostica e la segnalazione dei casi. Gli obiettivi specifici del WP4 sono:

- Realizzare un'analisi dello stato dell'arte e delle principali criticità collegate alle capacità diagnostiche e alle capacità di segnalazione (diagnosi, notifica e raccolta dei dati clinici) dei sistemi di sorveglianza avanzata già esistenti. Allo stesso tempo, identificare le necessità dei nuovi sistemi di sorveglianza in ambito umano, veterinario ed entomologico. Tali obiettivi saranno raggiunti attraverso una analisi dei dati di letteratura e/o l'utilizzo di apposti questionari.
- Condurre attività di formazione sull' organizzazione dei sistemi di sorveglianza e sull'armonizzazione delle attività di laboratorio (ad esempio, formazione diretta e a distanza, schemi di assicurazione di qualità esterna, seminari). Tali attività saranno indirizzate a professionisti del Sistema Sanitario Nazionale (SSN) operanti nell'ambito delle malattie zoonotiche e della sicurezza alimentare.
- Condurre attività di formazione mirate ad accrescere le capacità diagnostiche, la qualità dei dati generati e la copertura geografica dei sistemi di sorveglianza.
- Sviluppare o migliorare le reti di laboratori, la sorveglianza e le piattaforme per la raccolta e l'analisi dei dati riguardanti i patogeni identificati come bersagli prioritari in ambito umano, animale ed entomologico.

Introduzione

In Italia, il sistema di sorveglianza delle malattie infettive si compone del sistema di notifica nazionale e di sistemi di sorveglianza dedicati, che hanno obiettivi specifici. I diversi sistemi di sorveglianza soffrono attualmente di una mancata armonizzazione. Dal 2022, è stato istituito un nuovo sistema di notifica nazionale (PREMAL). Le autorità regionali organizzano i loro sistemi di raccolta e di invio dei dati al PREMAL attraverso diverse soluzioni informatiche.

In aggiunta al PREMAL, diversi sistemi basati sul web sono operativi, ed includono quelli per la sorveglianza delle resistenze antimicrobiche (AMR) e delle malattie batteriche invasive (MABI). Tali sistemi consentono ogni anno la raccolta dei dati di notifica prodotti dai laboratori diagnostici. Tuttavia, questo non risulta sufficiente ad ottenere una sorveglianza integrata, continua ed automatizzata, o, laddove necessario, a garantire un flusso di dati in tempo reale in grado di fornire informazioni che permettano di intervenire in caso di allerte sanitarie transfrontaliere causate da malattie infettive. Tanto il PREMAL che i sistemi basati sul web prevedono l'inserimento manuale dei dati e, di conseguenza, richiedono tempo e risorse umane, che vanno ad impattare sulla tempestività dell'informazione.

Il PREMAL è basato su una lista di malattie trasmissibili che devono essere segnalate a livello nazionale attraverso una piattaforma web dedicata o tramite interoperabilità con i sistemi regionali. Tuttavia, l'inserimento manuale dei dati limita lo scambio rapido e semplice delle informazioni, anche nelle situazioni che richiedono un allarme precoce dei rischi identificati dai laboratori riguardo patogeni specifici o inusuali, oppure le richieste di informazione provenienti da organi nazionali o internazionali.

Per molti patogeni ben conosciuti, i sistemi di sorveglianza avanzata (definiti come i sistemi italiani di sorveglianza dedicata a specifici patogeni che raccolgono una quantità di dati superiore al PREMAL) sono in grado di produrre dati accurati e completi. Tuttavia, per i patogeni emergenti o negletti, i dati risultano incompleti o non coprono l'intero paese, per via di lacune nella diagnosi e nella segnalazione dei casi. In tale contesto, una dettagliata analisi delle criticità risulta essenziale per: i) evidenziare i limiti dei sistemi di sorveglianza esistenti ed intraprendere le opportune strategie di miglioramento; ii) definire quanto necessario per implementare sistemi di sorveglianza sostenibili per quei patogeni che non sono attualmente monitorati o che risultano monitorati solo parzialmente. In accordo con la situazione appena descritta, le strategie ed i risultati delle analisi saranno riportati separatamente per i differenti patogeni, o gruppi di patogeni, per i quali l'implementazione di sistemi di sorveglianza è considerata una priorità in Italia. Per la raccolta delle informazioni sono stati utilizzati questionari dedicati sviluppati con la piattaforma Microsoft Forms, che consente di includere l'informativa sulla privacy e la protezione dei dati prevista dal GDPR, e che può quindi garantire un processo eticamente e legalmente trasparente dell'intero processo.

In questo report sono riportati i risultati delle analisi condotte per identificare le principali criticità e le azioni da intraprendere per un efficace miglioramento di alcuni sistemi di sorveglianza, sia in essere che in divenire, relativi a diversi patogeni, inclusi virus, batteri e parassiti, identificati in origine dal progetto PROVIDENT come di primaria rilevanza per il SSN.

I risultati delle attività proposte saranno riportati come parte integrante dei Deliverables D4.2, D4.3, D4.4, D4.5 e D4.6 del progetto.

1. Arbovirosi

Responsabili: Claudia Fortuna, Giulietta Venturi

Background e criticità

Le arbovirosi (arthropod-borne viruses) rappresentano un gruppo eterogeneo di infezioni virali trasmesse da artropodi ematofagi, in particolare zanzare (*Aedes, Culex*), flebotomi e zecche. Tra i principali arbovirus di rilevanza per la salute pubblica in Europa e in Italia si annoverano il virus West Nile (WNV), il virus Usutu (USUV), il virus dengue (DENV), il virus chikungunya (CHIKV) e il virus Zika (ZIKV).

Negli ultimi decenni, la diffusione geografica degli arbovirus ha subito un'importante espansione, favorita da fattori quali cambiamenti climatici, globalizzazione, aumento dei viaggi internazionali e adattamento dei vettori a nuovi ambienti. In Italia, episodi autoctoni di trasmissione sono ormai documentati per diversi arbovirus, in particolare WNV, CHIKV e DENV, evidenziando come queste infezioni non siano più esclusivamente "importate".

L'impatto sulla salute pubblica è rilevante e si manifesta con quadri clinici variabili, che spaziano da forme asintomatiche o lievi fino a manifestazioni severe neuroinvasive (come nel caso del WNV) o complicanze emorragiche (come nella dengue). Inoltre, la gestione delle arbovirosi richiede un approccio integrato di tipo One Health, che includa sorveglianza umana, veterinaria, entomologica e ambientale.

Nonostante i progressi nella sorveglianza, persistono importanti criticità, in particolare nell'ambito della diagnostica di laboratorio, che rappresenta uno degli elementi chiave per l'identificazione precoce dei casi e la gestione dei focolai.

La diagnosi delle arbovirosi presenta diverse complessità, legate sia alle caratteristiche biologiche dei virus sia ai limiti delle metodiche disponibili. Dal punto di vista molecolare, la finestra temporale per la rilevazione del genoma virale nel sangue è spesso limitata, richiedendo tempistiche di prelievo precise, e la necessità di raccogliere e analizzare matrici diverse. Trattandosi poi di virus in costante evoluzione, i metodi in uso possono perdere di sensibilità per la comparsa di mutazioni nelle regioni target di primer e sonde. Inoltre, la presenza di diversi arbovirus co-circolanti può rendere necessaria l'adozione di pannelli diagnostici multipli. La diagnosi sierologica, pur essendo ampiamente utilizzata, è frequentemente soggetta a fenomeni di cross-reattività, in particolare tra flavivirus (es. WNV, DENV, ZIKV, USUV), rendendo complessa l'interpretazione dei risultati e spesso richiedendo test di conferma (es. neutralizzazione).

Ulteriori criticità includono eterogeneità delle metodiche diagnostiche utilizzate nei diversi laboratori, limitata disponibilità di controlli positivi standardizzati, variabilità nella capacità di eseguire test di conferma (es. PRNT), differenze nell'accesso a tecniche avanzate (es. sequenziamento, isolamento virale) e carenza di protocolli armonizzati e condivisi. Queste limitazioni possono influenzare la sensibilità, la specificità e la comparabilità dei risultati diagnostici a livello nazionale, con un impatto diretto sulla sorveglianza epidemiologica.

Al fine di identificare in modo sistematico le principali criticità diagnostiche sul territorio nazionale, è stato sviluppato un questionario strutturato, volto a raccogliere informazioni sulle capacità diagnostiche dei laboratori operanti nell'ambito delle arbovirosi. Il questionario, consultabile a questo link, include domande relative a:

- tipologia di laboratorio (ospedaliero, riferimento regionale, ricerca, IZS, ecc.);
- metodiche utilizzate (molecolari, sierologiche, isolamento virale);
- disponibilità di test di conferma;
- bisogni formativi e tecnici.

Il questionario è stato distribuito a un ampio network di laboratori coinvolti nella diagnosi e nella sorveglianza delle arbovirosi a livello nazionale. I laboratori che hanno aderito all'iniziativa e compilato il questionario sono stati 52 e i dati raccolti rappresentano una base fondamentale per mappare le capacità diagnostiche esistenti, identificare lacune e criticità, definire interventi mirati di rafforzamento del sistema.

L'analisi dei questionari raccolti ha consentito di delineare un quadro rappresentativo delle capacità diagnostiche per arbovirosi sul territorio nazionale, evidenziando sia punti di forza sia importanti criticità.

I laboratori partecipanti sono rappresentativi di diverse realtà operative del sistema sanitario e della sanità pubblica. In particolare, circa il 50% delle risposte proviene da laboratori di microbiologia ospedaliera (n=30), seguiti da laboratori regionali di riferimento (27%, n=16), Istituti Zooprofilattici Sperimentali (10%, n=6) e altre tipologie di strutture (13%, n=8) (Figura 1). Questa distribuzione evidenzia un buon coinvolgimento sia del livello ospedaliero sia dei centri di riferimento, a conferma dell'interesse trasversale per la diagnostica delle arbovirosi.

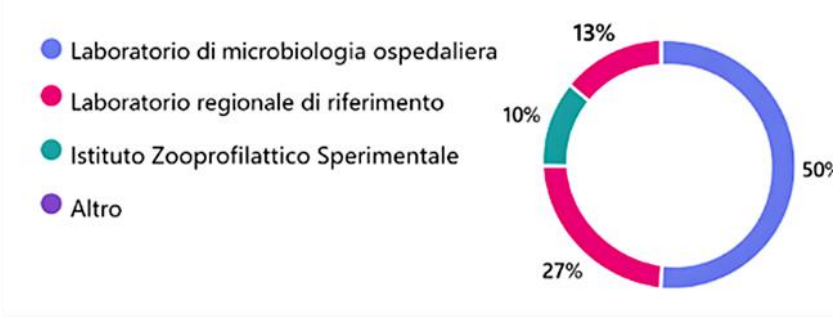


Figura 1 – Tipo di Ente

Le strutture risultano distribuite su tutto il territorio nazionale, con una maggiore rappresentanza nel Nord (circa 38%), seguito dal Sud (33%) e dal Centro (29%). A livello regionale, si osserva una partecipazione eterogenea, con alcune regioni maggiormente rappresentate (es. Veneto e Lazio), mentre per altre si riscontra una presenza più limitata (Fig.2). Questo dato suggerisce una copertura nazionale ampia ma non uniforme, con possibili differenze regionali nella capacità diagnostica o nel tipo di organizzazione (maggiore o minore centralizzazione della diagnostica per questi patogeni).

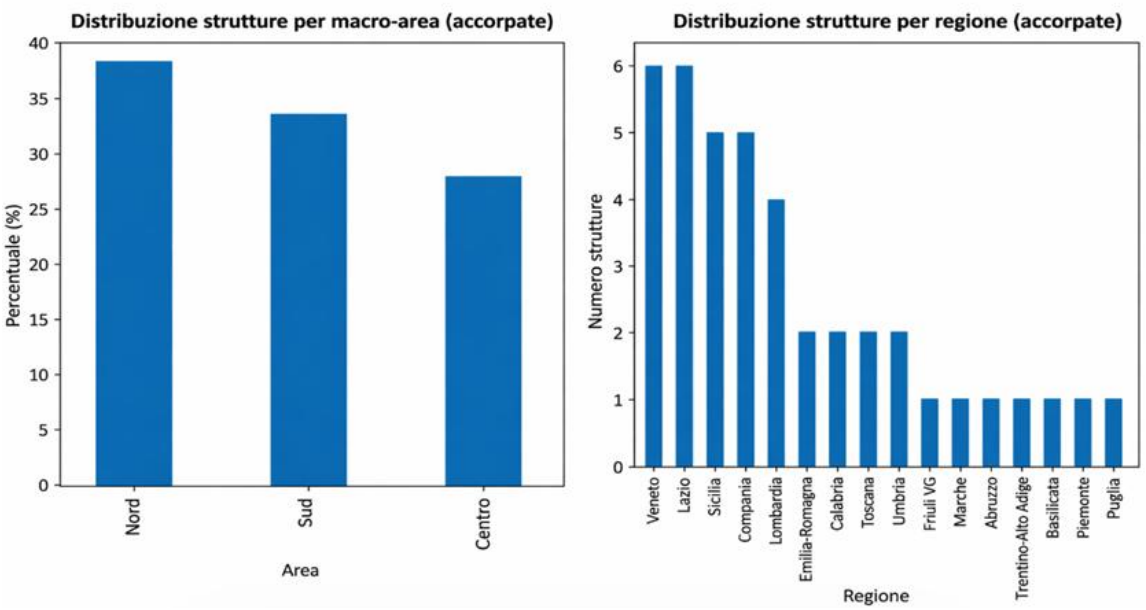


Figura 2 – Distribuzione per macroarea e per regione

La grande maggioranza dei laboratori (94%, n=47) ha dichiarato di disporre di test molecolari per arbovirus, mentre solo una quota minoritaria (6%, n=3) ne è priva. Questo dato rappresenta un punto di forza del sistema, indicando una buona diffusione delle tecniche di biologia molecolare a livello nazionale.

L'80% dei laboratori (n=40) esegue test sierologici e/o antigenici, mentre il 20% (n=10) non dispone di tali metodiche. Il test ELISA rappresenta la metodica più diffusa (n=25), seguito da test rapidi immunocromatografici (n=13), test di neutralizzazione (n=12), test antigenici (n=12) e immunofluorescenza (n=10). La presenza relativamente limitata di test di neutralizzazione, considerati il gold standard per la conferma sierologica, evidenzia una criticità rilevante, soprattutto in relazione alla cross-reattività tra flavivirus. Circa la metà dei laboratori (48%, n=24) effettua isolamento virale, mentre il 52% (n=26) non dispone di questa capacità. Il 78% dei laboratori (n=39) ha accesso a tecniche di sequenziamento, mentre il 22% (n=11) ne è privo. Questi dati indicano una discreta disponibilità di tecnologie avanzate, ma anche una significativa variabilità tra le strutture, in particolare per quanto riguarda l'isolamento virale.

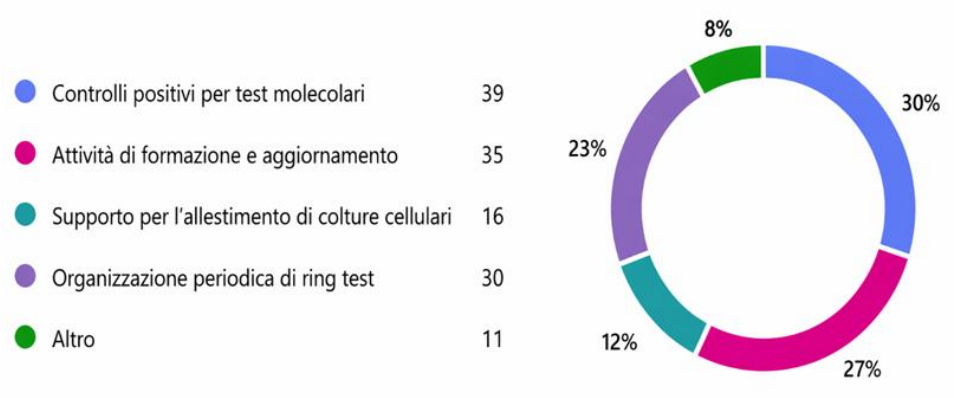


Figura 3 – Risorse necessarie

I principali bisogni espressi dai laboratori riguardano (Fig.3):

- controlli positivi per test molecolari (30%, n=39);
- attività di formazione e aggiornamento (27%, n=35);
- organizzazione periodica di ring test (23%, n=30);
- supporto per colture cellulari (12%, n=16).

Allo scopo di colmare le lacune evidenziate e rispondere ai bisogni espressi dai laboratori partecipanti al questionario, è stata pianificata una serie di attività. Tali attività saranno inizialmente attuate nelle tre Regioni (Lombardia, Toscana, Sicilia) selezionate come modello pilota, con l'obiettivo di testare, ottimizzare e convalidare l'approccio prima di un'eventuale estensione a livello nazionale.

Attività 1: Sviluppo e attuazione di procedure operative e attività di formazione su misura per soddisfare esigenze specifiche

Questa attività mira ad armonizzare gli approcci e le metodologie diagnostiche sul territorio nazionale attraverso l'adozione di standard tecnici condivisi.

L'obiettivo è l'allineamento interregionale per quanto riguarda gli algoritmi per le indagini di laboratorio e l'interpretazione dei risultati (compresa l'analisi delle sequenze genomiche) al fine di rafforzare e armonizzare le capacità diagnostiche relative agli arbovirus in tutta la rete di laboratori. Nello specifico, le attività pianificate sono:

- Condivisione e ottimizzazione degli algoritmi diagnostici e dei criteri di interpretazione dei risultati
- Condivisione dei protocolli diagnostici, con attività di formazione volte a soddisfare le esigenze specifiche dei singoli laboratori (su richiesta)
- Condivisione e ottimizzazione delle pipeline bioinformatiche, con attività di formazione volte a soddisfare le esigenze specifiche dei singoli laboratori (su richiesta)

L'inizio dell'attività è previsto a partire dal M17 per proseguire fino al termine del progetto.

Attività 2: Distribuzione di controlli positivi per la diagnostica molecolare

Questa attività introduce materiali di riferimento comuni per rafforzare l'affidabilità diagnostica e garantire

l'uniformità dei risultati tra i laboratori. L'obiettivo dell'attività è il miglioramento della robustezza analitica e il sostegno alla standardizzazione, nonché la promozione dell'allineamento metodologico attraverso la distribuzione di pannelli centralizzati di controlli positivi. Nello specifico, le attività pianificate sono:

- Produzione centralizzata di pannelli di controlli positivi per i test molecolari
- Distribuzione ai laboratori della rete (su richiesta)
- Valutazione dell'impatto sull'affidabilità diagnostica

L'inizio dell'attività è previsto a partire dal M17 per proseguire fino al termine del progetto.

Attività 3: Organizzazione di ring test periodici (Prove valutative inter-laboratorio)

Questa attività consiste nell'organizzare esercitazioni comparative inter-laboratorio per valutare le prestazioni diagnostiche e garantire l'uniformità dei risultati tra le Regioni. I laboratori riceveranno pannelli di campioni ciechi da analizzare e i risultati saranno confrontati e valutati centralmente.

L'obiettivo principale è verificare in maniera sistematica le performance diagnostiche dei laboratori, identificando eventuali criticità tecniche, errori sistematici o differenze metodologiche. L'attività mira, inoltre, a promuovere il miglioramento continuo della qualità diagnostica attraverso il confronto tra laboratori e il feedback strutturato. Un ulteriore obiettivo è favorire l'armonizzazione delle procedure e garantire la comparabilità dei dati prodotti nell'ambito della sorveglianza nazionale. Nello specifico, le attività pianificate sono:

- Distribuzione di campioni standardizzati ai laboratori di Lombardia, Toscana e Sicilia.
- Esecuzione dei test da parte dei laboratori regionali.
- Confronto interregionale dei risultati.
- Identificazione dei punti critici e delle azioni correttive.
- Ripetizione periodica (ad es. ogni anno).

L'inizio dell'attività è previsto a partire dal M18 per proseguire fino al termine del progetto.

2. Vettori e Malattie Trasmesse da Vettori (MTV)

Responsabili: Marco Di Luca, Gioia Bongiorno, Michela Menegon, Francesco Severini, Luciano Toma

Background e criticità

Le malattie trasmesse da vettori (MTV) sono infezioni causate da virus, batteri e protozoi, che si diffondono attraverso artropodi ematofagi come zanzare, flebotomi e zecche. In Italia le MTV rappresentano un tema di crescente rilevanza sanitaria a causa della presenza di vettori competenti e dell'aumento dei casi importati, favoriti dalla globalizzazione e dall'incremento di viaggi internazionali, oltre che dai cambiamenti climatici. Tra queste malattie, quelle che hanno un maggiore impatto sulla salute pubblica, sono quelle trasmesse da zanzare, come la West Nile (WND), ormai endemica in diverse aree del Paese, mantenuta da un ciclo tra uccelli e zanzare del genere *Culex*, con uomo e cavallo come ospiti occasionali. Al contrario, dengue, Zika e chikungunya sono prevalentemente infezioni importate, anche se possono generare focolai locali, grazie alla presenza e diffusione in Italia del vettore, la zanzara tigre o *Aedes albopictus*, come dimostrato dai recenti e sempre più frequenti episodi epidemici.

I flebotomi trasmettono patogeni di rilevanza medica. In Italia, la leishmaniosi è endemica ed è causata da protozoi del genere *Leishmania*, con il cane che funge da principale serbatoio; nell'uomo la forma viscerale può essere grave, soprattutto nei soggetti immunocompromessi, mentre la forma cutanea è generalmente autolimitante, anche se può lasciare cicatrici. Questi insetti sono anche vettori di virus del genere *Phlebovirus*, tra cui il Toscana virus, responsabile di meningiti e meningoencefaliti estive, e i virus Napoli e Sicilia, che causano sindromi febbrili acute generalmente lievi, ma talvolta associate a manifestazioni neurologiche.

Le zecche possono trasmettere numerosi patogeni, tra cui virus e batteri. Tra le infezioni di maggiore rilevanza in Italia si segnala l'encefalite da zecche (TBE), endemica in alcune aree del Nord-Est e trasmessa principalmente da specie del genere *Ixodes*.

Attualmente in Italia la sorveglianza delle principali MTV è regolata da un Piano nazionale per le arbovirosi (Ministero della Salute, PNA 2020-2025, prorogato per la stagione corrente, ma in fase di revisione in previsione del successivo quinquennio), e da circolari specifiche (Circolare per la malaria: Ministero della Salute, 2016 Prevenzione e controllo della malaria in Italia e Circolare per la leishmaniosi: Ministero della Salute, 2020 Prevenzione e controllo della leishmaniosi in Italia). A livello europeo, molte di queste sorveglianze sono ben strutturate e risultano all'avanguardia, come quella per la West Nile, condotta con un approccio multidisciplinare nella prevenzione, in un'ottica One Health.

Per altre MTV, sussistono ancora carenze a livello di implementazione, a diversi livelli a seconda della sorveglianza che si considera. Per cercare di avere un quadro esaustivo delle sorveglianze delle MTV, il gruppo di Entomologia medica dell'ISS ha sviluppato un questionario, usando Microsoft Forms (Le sorveglianze degli artropodi di interesse sanitario e dei patogeni da essi trasmessi). Questo è stato somministrato ad un ampio numero di Istituti ed Enti nazionali, operanti in ambito di salute pubblica, veterinaria ed ambientale e conteneva domande sulle tecniche impiegate nella routine diagnostica di agenti patogeni e vettori e sul numero di diagnosi effettuate nel periodo di riferimento selezionato. In particolare, il questionario è stato distribuito a 23 partecipanti, appartenenti a 19 enti, tra cui Istituti

zooprofilattici, Università, Enti di ricerca, ma anche ad alcune Società private. Dalle informazioni raccolte si desume che la maggior parte degli enti coinvolti opera nell'ambito della salute pubblica, spesso integrando attività di salute animale. Alcuni enti si occupano anche di sicurezza ambientale e alimentare, benessere animale e tutela del territorio. Le Università contribuiscono sia con attività di ricerca che di formazione, mentre altri enti offrono competenze tecniche specialistiche.

La survey indica che, nel 2024, la maggior parte dei campioni entomologici analizzati è rappresentata da zanzare (e di queste, le specie del genere *Anopheles* sono presenti in misura marginale), mentre i flebotomi sono risultati poco rappresentati tra i campioni identificati. Per la ricerca dei patogeni, le diverse specie di zanzare sono state processate principalmente in pool, mentre le zecche come singoli individui. La quasi totalità degli enti identifica i patogeni a livello di specie.

Le associazioni vettore–patogeno rilevate più frequentemente sono state:

- *Culex pipiens* → WNV e USUV
- *Aedes albopictus* → arbovirus emergenti (CHIKV, DENV, ZIKV)
- *Phlebotomus perniciosus* → *Leishmania infantum*
- *Ixodes ricinus* → *Borrelia, Rickettsia, Anaplasma, Babesia*, TBEV
- *Culicoides imicola/obsoletus* → Bluetongue virus

Dai dati del questionario emerge una rete di sorveglianza entomologica complessivamente strutturata, ma con alcune criticità che ne limitano la copertura e l'efficacia. In primo luogo, il monitoraggio dei vettori meno diffusi risulta poco capillare: i *Culicoides* sono analizzati in pochissimi casi e anche alcuni generi di zecche, come *Rhipicephalus* e *Hyalomma* ricevono un'attenzione limitata (Figura 1). Questo comporta il rischio che malattie associate a questi artropodi, come Bluetongue o CCHFV, possano non essere rilevate o intercettate in ritardo nelle aree in cui questi vettori sono presenti, ma non considerati prioritari. Un'altra lacuna riguarda la quasi assenza di sorveglianza delle zanzare del genere *Anopheles*. Nonostante la malaria non sia più endemica in Italia, la mancanza di un monitoraggio dell'anofelismo residuo e in particolare dei vettori storici di questa malattia, ancora diffusi nel nostro territorio, rappresenta un potenziale punto critico in caso di reintroduzione del patogeno.

Parallelamente, si osserva l'introduzione e una, seppur lenta, adozione di tecnologie diagnostiche innovative: la maggior parte degli enti utilizza metodi consolidati come la PCR, mentre strumenti più avanzati come AI, MALDI-ToF o tecniche ad alta processività sono ancora poco diffusi, limitando la capacità di analizzare grandi volumi di campioni in modo rapido e sensibile (Fig. 2).

Dal punto di vista dell'efficienza operativa, l'analisi delle zecche rappresenta un collo di bottiglia, poiché spesso richiede test su campioni singoli, rendendo il processo più costoso e meno scalabile rispetto ad altri vettori analizzati in pool. Infine, i bassi numeri di campioni processati di flebotomi e *Anopheles* indicano una priorità ridotta o una limitata capacità di raccolta, con conseguente minore robustezza della sorveglianza per patogeni come *Leishmania* o eventuali agenti malarici. Nel complesso, queste lacune suggeriscono la necessità di un rafforzamento mirato della rete, soprattutto in termini di copertura dei vettori meno monitorati, innovazione tecnologica e capacità di campionamento.

Dal punto di vista territoriale, emerge: una generale attivazione dei piani locali di sorveglianza e controllo delle MTV in molte realtà regionali, anche se non implementati in maniera omogenea e uniforme sul resto

del territorio; una limitata adozione delle attività su scala comunale e talvolta per alcune MTV una carenza di diagnosi e uno scarso o non efficace flusso informativo su scala sovraregionale o centrale, portando a possibili deficit di comunicazione e coordinamento. Sul piano entomologico, la copertura risulta non omogenea, con alcuni vettori, come *Anopheles*, *Culicoides,* zecche e flebotomi, ancora poco monitorati. Dal punto di vista metodologico, persistono differenze negli approcci (morfologici *vs* molecolari) e un utilizzo ancora limitato di tecnologie avanzate e dell'intelligenza artificiale, evidenziando ulteriori margini di miglioramento e standardizzazione.

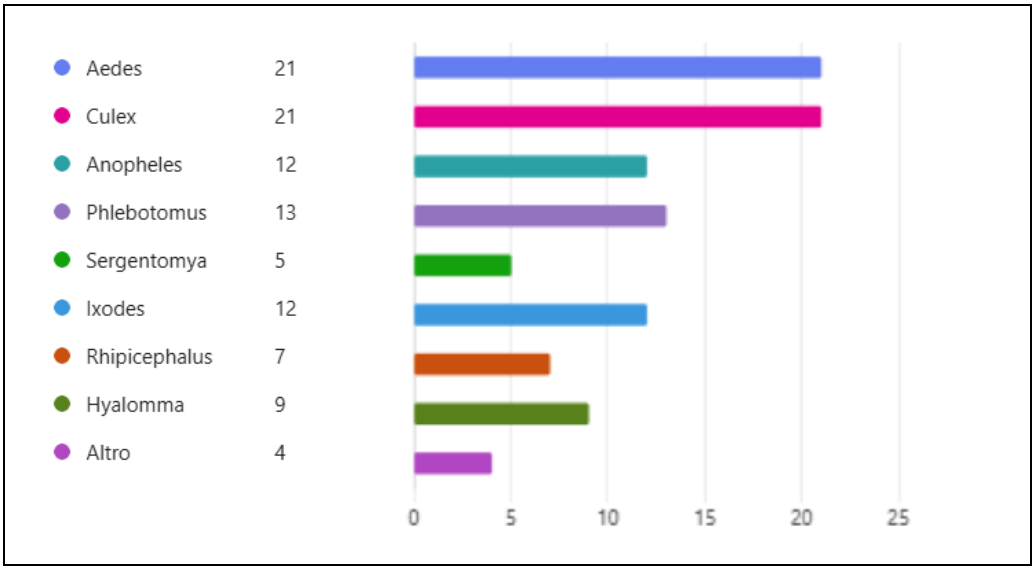


Figura 1. Numero di enti coinvolti nella sorveglianza dei principali generi di vettori.

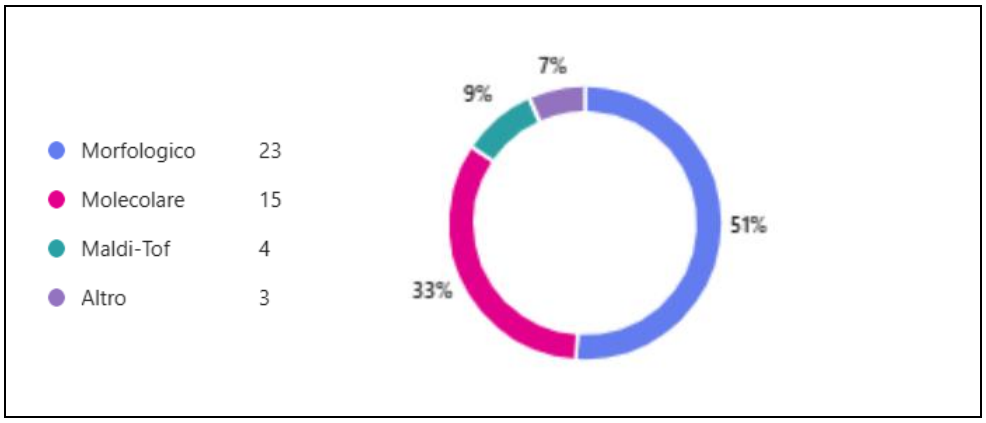


Figura 2. Distribuzione percentuale degli Enti che adottano i vari metodi di identificazione dei vettori.

In sintesi, l'analisi dei dati acquisiti grazie al questionario ha permesso di evidenziare che la rete di sorveglianza per alcune arbovirosi è comunque solida e avanzata in aree di Salute Pubblica/Animale, con

una forte prevalenza molecolare nella diagnostica dei patogeni, riscontrabile soprattutto nella sorveglianza prevista dal PNA 2020-2025.

Le principali criticità riguardano::

- Copertura Geografica: carenza di sorveglianze a livello comunale e scarso coordinamento sovraregionale.
- Copertura Vettoriale: mancanza di un sistema integrato e coordinato per la sorveglianza delle specie invasive (es. *Aedes*). Sottorappresentazione di sorveglianze su vettori come zecche, *Culicoides* e *Anopheles*.
- Adozione Tecnologica: lenta adozione di tecniche di automatizzazione/AI e di diagnostica avanzata (MALDI-ToF, dPCR), che potrebbero aumentare l'efficienza e la sensibilità del sistema.

Sulla base di queste osservazioni è stato predisposto un piano di attività, illustrato qui di seguito, allo scopo di colmare le lacune messe in evidenza, sia dai dati di letteratura, che dall'indagine svolta mediante il questionario.

Attività 1: Rafforzamento della rete di sorveglianza entomologica e dei patogeni correlati:

Tale attività si prefigge l'obiettivo di rafforzare e integrare la rete esistente, promuovendo un maggiore coordinamento interregionale, ampliando la copertura territoriale delle specie di interesse sanitario e incentivando l'adozione di tecnologie avanzate. In particolare, si intende promuovere l'armonizzazione delle attività di identificazione dei vettori e screening dei patogeni trasmessi, garantendo maggiore uniformità e comparabilità dei dati, e istituire un coordinamento nazionale per l'identificazione a livello di specie degli agenti rilevati. Elemento centrale sarà l'adozione di protocolli standardizzati e condivisi, finalizzati a migliorare la qualità delle informazioni raccolte e a supportare in modo più efficace la valutazione del rischio sanitario e il monitoraggio delle dinamiche di trasmissione.

Il principale output dell'attività sarà il rafforzamento della rete di laboratori di competenza regionale, a partire da quelli che aderiranno a questa proposta (enti partner + eventualmente Sardegna), per la sorveglianza di vettori di interesse sanitario e lo screening dei patogeni in essi rilevati.

Inizio delle attività M17 e fine delle attività M23.

Attività 2: Formazione

L'ISS intende fornire supporto e coordinamento ai laboratori coinvolti nelle attività di sorveglianza. Di conseguenza, l'obiettivo di questa attività è fornire supporto teorico-pratico per l'implementazione di approcci standardizzati per la cattura, identificazione e screening dei patogeni nei vettori di interesse sanitario. Le attività saranno finalizzate alla definizione e condivisione di protocolli operativi comuni per il campionamento sul campo, l'identificazione morfologica e/o molecolare dei vettori, nonché l'analisi della presenza di patogeni di rilevanza sanitaria. Il supporto riguarderà in particolare il coordinamento tra le istituzioni coinvolte o da inserire nelle attività di monitoraggio e sorveglianza entomologica (enti partner + eventualmente Sardegna), al fine di armonizzare le metodologie e definire i flussi di lavoro. La formazione sarà erogata principalmente a distanza e strutturata con uno o più incontri tecnici dedicati alla pianificazione delle attività, con la possibilità di prevedere interventi dedicati da svolgere in presenza, qualora emergano specifiche criticità o necessità operative.

Il principale output dell'attività è la messa a disposizione protocolli operativi e materiali informativi.

Inizio delle attività M22 e fine delle attività M27.

Attività 3: Indagine pilota

Indagine pilota sulla presenza, distribuzione e dinamica stagionale di vettori di interesse sanitario in alcune aree selezionate delle regioni partner del progetto (Lombardia, Toscana e Sicilia) ed eventualmente anche in Sardegna.

L'attività ha l'obiettivo di fornire un aggiornamento della presenza, densità e diffusione di alcune specie di vettori attraverso l'implementazione e il rafforzamento delle attività di sorveglianza entomologica in specifiche aree selezionate. I campionamenti saranno effettuati mediante metodologie standardizzate per la cattura dei vettori, seguiti dall'identificazione delle specie e, laddove possibile, dallo screening dei patogeni ad essi associati. Le attività saranno condotte in collaborazione con enti territoriali già coinvolti come partner del Progetto o da coinvolgere (es. Sardegna), promuovendo una raccolta centralizzata dei dati e/o dei campioni. In determinate occasioni, su richiesta degli enti locali, l'ISS potrà supportare le attività, pianificando e realizzando campionamenti entomologici *ad hoc*, finalizzati ad approfondire la circolazione dei vettori e degli eventuali patogeni associati. Verranno valutati anche fattori ambientali associati alla presenza dei vettori nei diversi territori.

Il principale output sarò un rapporto dei risultati dei test di competenza.

Inizio delle attività M28 e fine delle attività M41.

3. Epatiti virali emergenti (HEV) e ri-emergenti (HAV)

Responsabili: Luisa Galati, Roberto Bruni, Anna Rita Ciccaglione

Background e criticità

Le epatiti virali A ed E sono malattie infettive causate da virus epatotropi che causano infiammazione a carico del fegato. Gli agenti eziologici delle epatiti virali A ed E sono il virus dell'epatite A (HAV) ed il virus dell'epatite E (HEV), rispettivamente.

Il virus HAV è classificato nella famiglia *Picornaviridae* e nel genere *Hepatovirus,* di cui si conoscono tre genotipi che infettano l'uomo, cioè I, II e III, ulteriormente suddivisi nei sottotipi IA, IB, IIA, IIB, IIIA e IIIB.

L'HAV non determina infezione cronica nell'ospite e, nella maggior parte dei casi, l'epatite A ha un decorso sub-clinico e autolimitante, sebbene in rari casi siano riportate condizioni più gravi o forme epatiche fulminanti.

Il virus dell'epatite E, cioè HEV, è classificato nella famiglia *Hepeviridae* e nel genere *Paslahepevirus,* di cui, ad oggi, si conoscono otto genotipi classificati da HEV-1 ad HEV-8. I genotipi HEV-1 e HEV-2 infettano esclusivamente l'uomo, mentre i genotipi HEV-3 e HEV-4 sono presenti anche in varie specie di mammiferi, che rappresentano gli ospiti naturali nei quali tali genotipi circolano abitualmente. L'infezione da HEV-3 ed HEV-4 è acquisita esclusivamente per via zoonotica: non c'è evidenza di trasmissione interumana. Il virus HEV è prevalentemente associato ad infezioni acute, sebbene siano riportati rari casi di infezione cronica. Come per l'epatite A, la malattia epatica sostenuta da HEV è spesso autolimitante, ma sono noti rari casi di epatite E con decorso clinico grave, insufficienza epatica fulminante o complicanze extra-epatiche.

La trasmissione di HAV e dei genotipi HEV-1 e HEV-2 avviene attraverso la via oro-fecale ed entrambi i virus possono essere responsabili di forme sporadiche e di focolai epidemici (*outbreak*). L'identificazione dei genotipi e dei sottotipi di HAV ed HEV, attraverso sequenziamento ed analisi filogenetica, è effettuata per le indagini epidemiologico-molecolari, per il monitoraggio della circolazione dei ceppi virali ed in caso di *outbreak*.

L'infezione da HAV ed HEV è endemica in diverse aree del mondo in via di sviluppo, mentre nei paesi industrializzati l'epatite A è considerata una malattia infettiva ri-emergente e l'epatite E è emergente.

In Italia, la sorveglianza epidemiologica delle epatiti virali è basata sulla raccolta dati effettuata tramite il sistema PREMAL che è fornito dal Ministero della Salute. Il sistema PREMAL è integrato dal sistema SEIEVA, che è coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità (come da DPCM 03-03-2017), avente l'obiettivo di monitorare i tassi di incidenza ed i fattori di rischio per le epatiti virali acute determinate da infezione con i virus HAV, HBV, HCV, HDV e HEV.

Secondo l'esperienza del Laboratorio Nazionale di Riferimento presente in ISS, le capacità diagnostiche e di sorveglianza molecolare per l'epatite virale da HAV e HEV mostrano una diversa distribuzione a livello nazionale. Nello specifico, la capacità diagnostica per l'epatite A è effettuata ed ampiamente distribuita sull'intero territorio nazionale, mentre la capacità diagnostica per l'epatite E è più limitata.

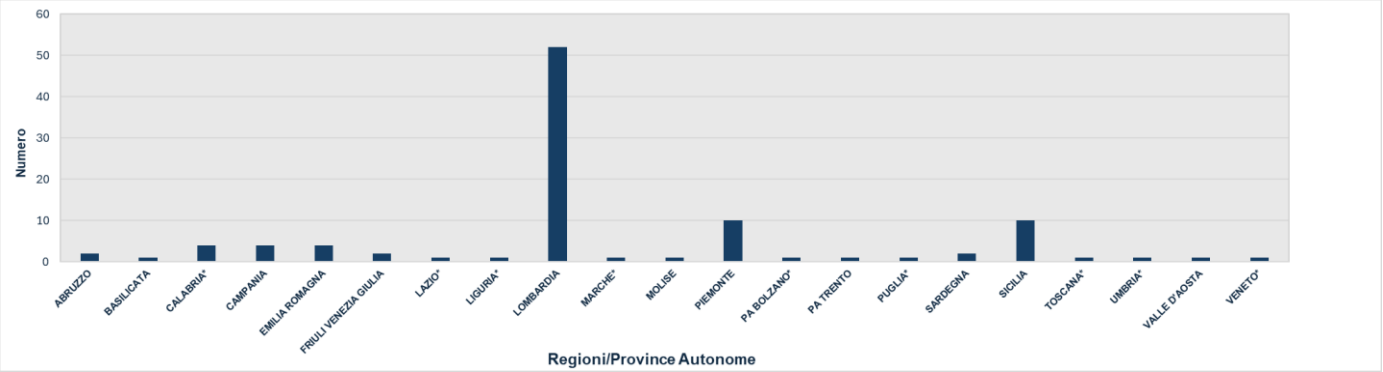
La sorveglianza e la caratterizzazione molecolare dei ceppi di HAV ed HEV sono invece limitate a livello nazionale a pochi laboratori regionali. Nello specifico, la capacità dei laboratori di diagnosticare l'epatite A

presenta una distribuzione geografica più ampia a livello nazionale, mentre è meno diffusa la caratterizzazione molecolare dei ceppi di HAV.

La capacità diagnostica per il virus emergente HEV è più limitata a livello nazionale, così come la sorveglianza molecolare dei ceppi di HEV. Pertanto, per valutare la capacità diagnostica e di caratterizzazione molecolare di HAV e HEV a livello nazionale, è stato utilizzato un questionario online *ad hoc* che è stato inviato a 21 referenti del Dipartimento di Prevenzione, delle 21 Regioni/Province autonome italiane. Ciascun rappresentante regionale ha quindi identificato i laboratori di microbiologia partecipanti all'indagine online.

Il questionario predisposto con Microsoft Form, disponibile al seguente link, conteneva domande inerenti alla capacità diagnostica e di caratterizzazione molecolare per HAV ed HEV, i metodi impiegati nell' attività diagnostica, la tipologia di sequenziamento impiegata per la caratterizzazione molecolare, ecc.

L'indagine si basa sui risultati raccolti dai laboratori di microbiologia distribuiti su tutto il territorio nazionale, come indicato in Figura 1. I laboratori che hanno aderito all'indagine, in totale 102, afferiscono a laboratori ospedalieri (72.6%), laboratori Regionali/Provinciali di riferimento (8.8%), Università (4.9%), Istituti di Ricerca (3.9%), Dipartimento di Prevenzione (2%) e altro (7.8%).



Nota: *Laboratorio di Riferimento Regionale o Provinciale.

Figura 1: Distribuzione e numero dei laboratori che hanno aderito al questionario nelle 21 Regioni/Province Autonome (PA) italiane nel periodo Febbraio-Aprile 2026.

Complessivamente, l'attività diagnostica per HAV e HEV, eseguita attraverso l'applicazione di test sierologici e molecolari di Real Time-PCR, è effettuata, rispettivamente, nel 74.5% (n=76) e nel 44.1% (n=45) dei laboratori che hanno aderito all'indagine, con una prevalenza della diagnostica effettuata per HAV, come riportato nella Figura 2.

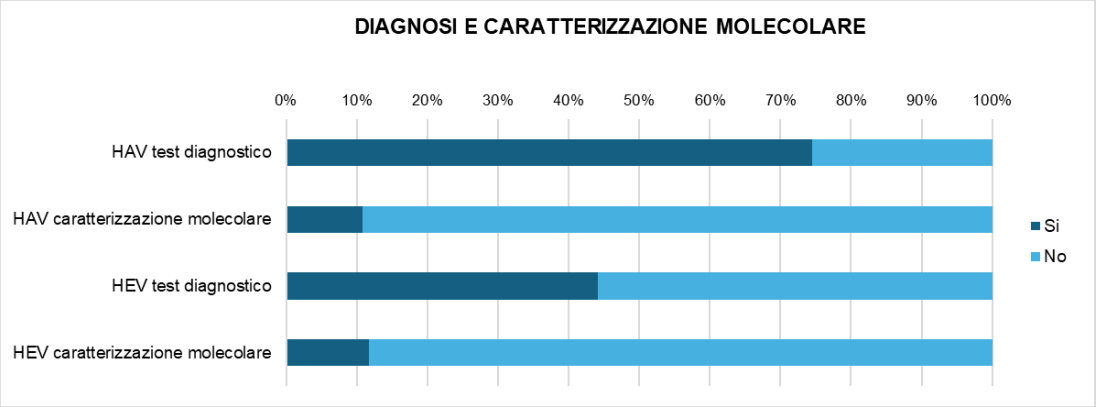


Figura 2: Stratificazione dell'attività diagnostica, che comprende l'applicazione di test sierologici per il rilevamento di IgM o di test molecolari RT-PCR, e di caratterizzazione molecolare per HAV ed HEV attraverso analisi di sequenziamento nei laboratori che hanno aderito alla survey.

Con riferimento alle metodiche di diagnosi utilizzate nei diversi laboratori, per HAV tale attività è eseguita principalmente attraverso l'applicazione di test sierologici (n=60, 79%) basati sul rilevamento delle immunoglobuline di tipo IgM, mentre il 19.7% (n=15) dei laboratori esegue sia il test sierologico che quello molecolare attraverso Real-Time PCR (Figura 3).

Al contrario, l'attività diagnostica per HEV è eseguita prevalentemente attraverso l'applicazione combinata di test sierologici per il rilevamento delle IgM e test molecolari basati sulla reazione di PCR (RT-PCR), come riportato dal 68.9% (n=31) dei laboratori intervistati (Figura 3).

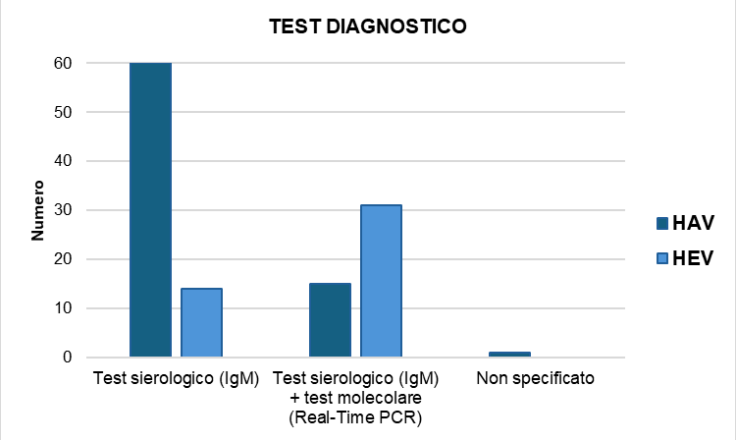


Figura 3. Stratificazione dell'attività diagnostica per tipologia di test utilizzato, sierologico e/o molecolare tramite Real Time-PCR, per HAV ed HEV nei laboratori che hanno aderito alla survey.

Le domande successive presenti nella survey riguardavano anche i metodi di caratterizzazione molecolare e le metodiche di sequenziamento in uso nei diversi laboratori, nonché le regioni del genoma virale di HAV ed HEV selezionate per il sequenziamento. Dall'analisi dei dati è emerso che la caratterizzazione molecolare dei ceppi virali attraverso sequenziamento è disponibile nel 10.8% (n=11) e 11.8% (n=12) dei laboratori per HAV e HEV, rispettivamente. Ciò indica una capacità generale limitata per la sorveglianza molecolare di tali virus.

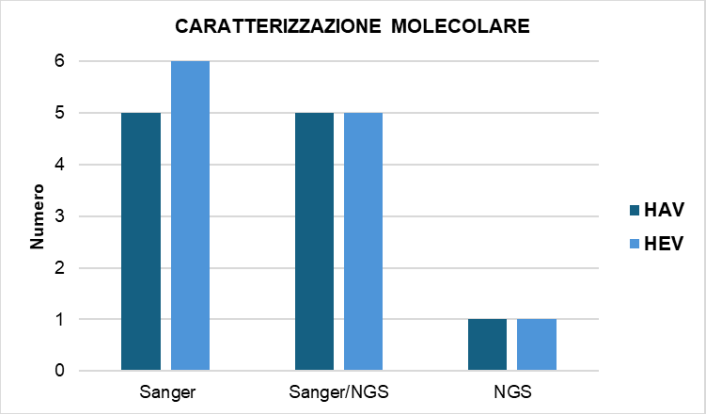


Figura 4: Attività di caratterizzazione molecolare nei laboratori che hanno aderito all'indagine stratificata per tipologia di sequenziamento, Sanger e Next Generation Sequencing (NGS), sia per HAV che per HEV.

Per quanto riguarda i centri che eseguono la caratterizzazione molecolare dei virus responsabili di epatite A ed E, i protocolli applicati (protocolli ECDC) per il sequenziamento includono le regioni virali VP1/2A per HAV e ORF 2 per HEV, come indicato nella maggior parte delle risposte. Per il sequenziamento viene utilizzato il metodo Sanger e/o Next Generation Sequencing (NGS) sia per HAV che per HEV in 11 e 12 centri, rispettivamente, che sono distribuiti in 10 Regioni (Figura 4 e Tabella 1).

Tabella 1: Distribuzione geografica dei centri che effettuano la caratterizzazione molecolare per HAV e/o HEV.

Regione	Numero centri
Calabria	2
Campania	1
Emilia-Romagna	1
Lazio	1
Liguria	1
Lombardia	1
Marche	1
Puglia	1
Sicilia	2
Veneto	1

Inoltre, dall'analisi dei dati della survey è emerso che in altri 4 centri, distribuiti in ulteriori 4 Regioni, la caratterizzazione molecolare di tali patogeni potrebbe essere implementata attraverso analisi di sequenziamento con tecnologia Sanger o NGS.

In sintesi, l'analisi dei questionari ha permesso di evidenziare le seguenti criticità:

- Scarsa diffusione della caratterizzazione molecolare sia per HAV che per HEV rispetto all'attività diagnostica
- Necessità di fornire supporto molecolare attraverso analisi centralizzate presso il laboratorio di Riferimento Nazionale dell'ISS per effettuare l'analisi dei campioni raccolti dalla rete dei laboratori regionali
- Carenza di protocolli omogenei e standardizzati per la caratterizzazione molecolare di HAV ed HEV attraverso sequenziamento Sanger tra i centri regionali che effettuano la sorveglianza molecolare
- Necessità di attività di formazione virtuale con i referenti regionali dei laboratori per implementare una rete collaborativa, strutturata e omogenea a livello nazionale

Successivamente, dall'analisi dei risultati ottenuti due attività sono state pianificate per rispondere ai bisogni emersi. Tali attività mirano ad implementare, potenziare e rafforzare la capacità di sorveglianza per HAV ed HEV a livello nazionale.

Attività 1: Potenziare la capacità di sorveglianza di HAV e HEV attraverso la condivisione di procedure operative standard e attività di formazione online

Questa attività ha il fine di implementare una rete collaborativa e strutturata, costituita dai vari laboratori regionali, per la sorveglianza di HAV e HEV al fine di identificare tempestivamente potenziali focolai a livello nazionale. Il raggiungimento di questo obiettivo è perseguibile attraverso l'armonizzazione dei protocolli molecolari per la caratterizzazione di HAV e HEV nei laboratori regionali che effettuano sequenziamento Sanger per tali patogeni. Inoltre, il Laboratorio Nazionale di Riferimento fornirà supporto molecolare ai laboratori che ancora non effettuano la caratterizzazione molecolare per HAV ed HEV. Gli obiettivi specifici di questa attività sono:

- Fornire e condividere protocolli molecolari standardizzati per una caratterizzazione omogenea di HAV e HEV tra i vari laboratori regionali che eseguono o che potrebbero implementare attività di sequenziamento Sanger
- Fornire attività di supporto e formazione da remoto per la caratterizzazione molecolare di HAV e HEV nei laboratori della rete
- Fornire supporto ai laboratori che non eseguono la caratterizzazione molecolare di HAV e HEV per implementare l'attività di sorveglianza (su richiesta da parte dei laboratori della rete)

Le attività avranno inizio a M22 per proseguire fino alla fine del progetto.

Attività 2: Pianificare uno studio inter-laboratorio per l'armonizzazione dei test di caratterizzazione molecolare

Questa attività riguarda la pianificazione di uno studio con la rete regionale dei laboratori per verificare l'implementazione dei protocolli molecolari precedentemente forniti per la caratterizzazione di HAV ed

HEV. Tale attività permetterà di valutare l'introduzione e la corretta esecuzione dei protocolli di PCR e sequenziamento, forniti da ISS, nei laboratori regionali che abbiano volontariamente aderito e abbiano previamente ricevuto adeguata formazione. In particolare, le attività riguarderanno:

- Distribuzione di un pannello di campioni standard ai laboratori della rete regionale (su richiesta degli stessi laboratori con expertise e tecnologie adeguate che prevedono di implementare la caratterizzazione molecolare con sequenziamento Sanger);
- Esecuzione dei test molecolari in ciascun laboratorio regionale e invio dei risultati al Laboratorio Nazionale;
- Analisi ed elaborazione dei risultati molecolari ottenuti dai laboratori;
- Diffusione dei risultati complessivi ai partecipanti in forma anonima (ad ogni laboratorio sarà assegnato e comunicato un codice identificativo; ogni laboratorio riceverà solo il proprio codice per poter visualizzare la propria performance nel contesto complessivo, senza poter identificare gli altri laboratori partecipanti) ;
- Armonizzazione inter-centro dei protocolli molecolari di PCR e sequenziamento per la caratterizzazione e la sorveglianza molecolare di HAV e HEV a livello Regionale/Nazionale.

Tale attività consentirà di analizzare e confrontare i risultati molecolari ottenuti dai laboratori regionali dall'analisi dei campioni inviati, verificando l'uniformità e la comparabilità dei risultati ottenuti dai diversi laboratori. Gli obiettivi sono sia la riduzione dell'eterogeneità tra i protocolli molecolari utilizzati nei vari laboratori, uniformando la regione virale sequenziata e quindi la comparabilità del monitoraggio virologico, sia un miglioramento della *preparedness* in quanto viene facilitato il riconoscimento di possibili focolai epidemici.

Le attività avranno inizio al M26 per proseguire fino alla fine del progetto.

4. Malattie batteriche invasive

Responsabili: Paola Stefanelli a nome del gruppo MaBI: R. Camilli, F. P. D'Ancona, M. Del Manso, M. Giufré, A. Neri, E. Taviani

Background e criticità

Le malattie batteriche invasive (meningite, sepsi, polmonite batterica e altri quadri clinici con isolamento di batteri da siti normalmente sterili) rappresentano un'importante causa di morbilità e sono spesso caratterizzate da gravi complicazioni. Gli agenti causali più frequenti sono *Neisseria meningitidis* (Nm), *Streptococcus pneumoniae* (Sp) e *Haemophilus influenzae* (Hi). La determinazione della loro eziologia è estremamente importante, non solo a fini terapeutici ma anche per aspetti legati alla prevenzione (eventuale profilassi da contatto, strategie vaccinali).

In Italia, nel 2007 è stato attivato il Sistema Nazionale di Sorveglianza delle Malattie Batteriche Invasive (MaBI), estendendo il monitoraggio preesistente della meningite batterica (Circolari del Ministero della Salute n.400.2/15/5709 del 29 dicembre 1993 e n.400.2/15/3290 del 27 luglio 1994), e successivamente aggiornato secondo la Circolare del 9 maggio 2017 del Ministero della Salute "Prevenzione e controllo delle malattie batteriche invasive prevenibili mediante vaccinazione". In relazione al DPCM del 3 marzo 2017, l'Istituto Superiore di Sanità svolge il ruolo di coordinatore della Sorveglianza Nazionale delle MaBI.

Il sistema di sorveglianza MaBI raccoglie dati dai laboratori ospedalieri, dai Laboratori Regionali di Riferimento e dal Laboratorio Nazionale di Riferimento, presso il Dipartimento di Malattie Infettive dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS). In particolare, la conferma diagnostica e la tipizzazione degli isolati batterici e/o i campioni clinici vengono inviati al Laboratorio Nazionale di Riferimento per indagini microbiologiche e molecolari. Queste indagini includono l'identificazione del sierogruppo/sierotipo capsulare, la sensibilità agli antibiotici e la tipizzazione molecolare di ceppi di *Nm*, *Sp* e *Hi*, al fine di garantire la qualità e l'affidabilità dei dati di sorveglianza nazionali.

Nonostante i progressi compiuti nella sorveglianza negli ultimi anni, persiste una certa eterogeneità interregionale, con il numero di casi/100.000 abitanti per i singoli patogeni che mostra un gradiente decrescente nord-sud. Tale differenza potrebbe essere attribuibile a variazioni nella suscettibilità e vulnerabilità della popolazione, alle dinamiche di trasmissione del patogeno, ma anche a fenomeni di sotto-diagnosi e/o sotto-notifica. A ciò si aggiunge una capacità ancora variabile di caratterizzazione microbiologica, in particolare l'identificazione del sierogruppo/sierotipo, elemento cruciale per monitorare la distribuzione dei sierogruppi/sierotipi circolanti e stimare la quota di infezioni invasive prevenibili mediante vaccinazione.

Nell'ambito del progetto PROVIDENT è stata condotta un'indagine, utilizzando un questionario specifico, per ottenere un quadro aggiornato e completo delle capacità diagnostiche e microbiologiche, relativamente ai 3 patogeni sopra elencati, dei Laboratori Ospedalieri e dei Laboratori Regionali di Riferimento, dove presenti. Le domande del questionario includevano:

- tipologia di laboratorio (ospedaliero, riferimento regionale, sanità pubblica, universitario, ecc.)

- metodiche utilizzate per la diagnosi (colturale, molecolare, test antigenico, colorazione di Gram)
- metodiche utilizzate per la sierotipizzazione (test di agglutinazione, test di Neufeld, PCR, RT-PCR, sequenziamento genomico)
- partecipazione alla sorveglianza MaBI

Il questionario, sviluppato sulla piattaforma Microsoft Forms, includeva anche un'informativa sulla privacy e informazioni sulla protezione dei dati conformi al GDPR, garantendo che tutti i dati raccolti fossero trattati in modo legale, trasparente ed etico.

Il questionario è stato inviato ai Laboratori di Riferimento Regionali e delle Province Autonome, nonché ad altri Laboratori Ospedalieri di regioni prive di laboratori di riferimento regionali, nel periodo novembre - dicembre 2025. Le strutture sanitarie che hanno partecipato hanno incluso laboratori ospedalieri (56%), Centri di Riferimento Regionali (CRR) (24%), laboratori di sanità pubblica (8%) e altre tipologie di strutture (12%) (Figura1), con i CRR maggiormente rappresentati nella macroarea nord-centro.

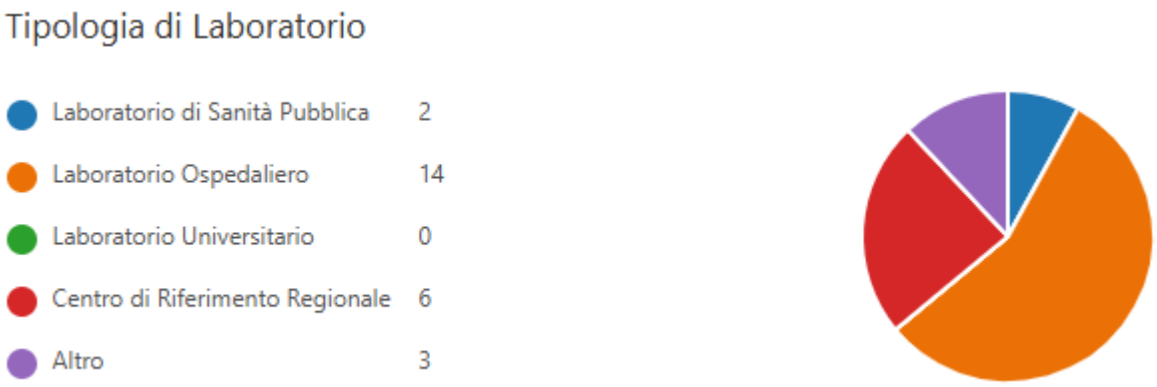


Figura 1. Tipologia di laboratorio.

I principali risultati del questionario sono stati:

- un tasso di risposta del 62,5% (25/40 laboratori, includendo 20/21 Regioni/P.A.);
- una capacità diagnostica del 100% per i tre patogeni;
- le metodiche diagnostiche più utilizzate sono state per i tre patogeni, il test colturale (*Nm: 23/25, 92%*; *Sp: 23/25,* 92%; *Hi: 23/25,* 92%), il test molecolare (*Nm: 23/25,* 92%; *Sp: 23/25,* 92%; *Hi*: *23/25,* 92%) e la colorazione di Gram (*Nm: 21/25, 84%*; *Sp*: 21/25, 84%; *Hi*: 20/25, 80%);
- una capacità di identificare il sierogruppo/sierotipo del 64% (16/25) per *Nm,* del 32% (8/25) per *Sp, e* del 40% (10/25) per *Hi;*
- le metodiche di sierotipizzazione più utilizzate sono state il saggio di agglutinazione (*Nm*: 12/16, 75%*; Sp:* 5/8, 62,5%; *Hi*: 4/10, 40%) ed il test molecolare (*Nm*: 8/16, 50%; *Sp*: 4/8, 50%; *Hi*: 5/10, 50%) (Figura 2, Figura 3 e Figura 4, rispettivamente);
- un'adesione alla sorveglianza MaBI dell'88% (22/25 laboratori ospedalieri);

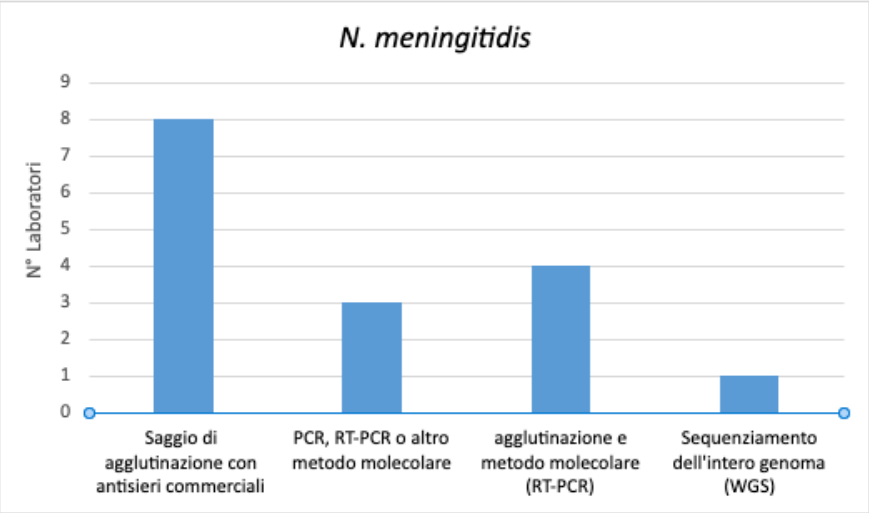


Figura2. Metodi di sierotipizzazione di *N. meningitidis*.

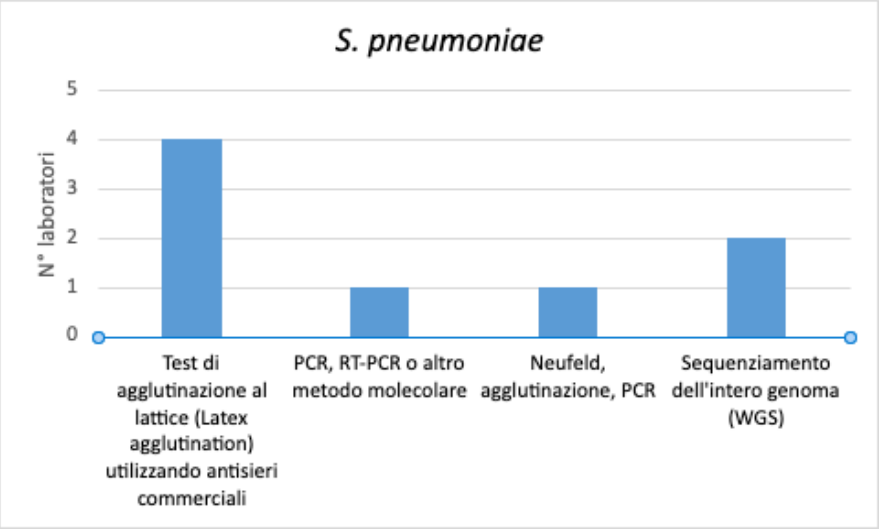


Figura 3. Metodi di sierotipizzazione di *S. pneumoniae*.

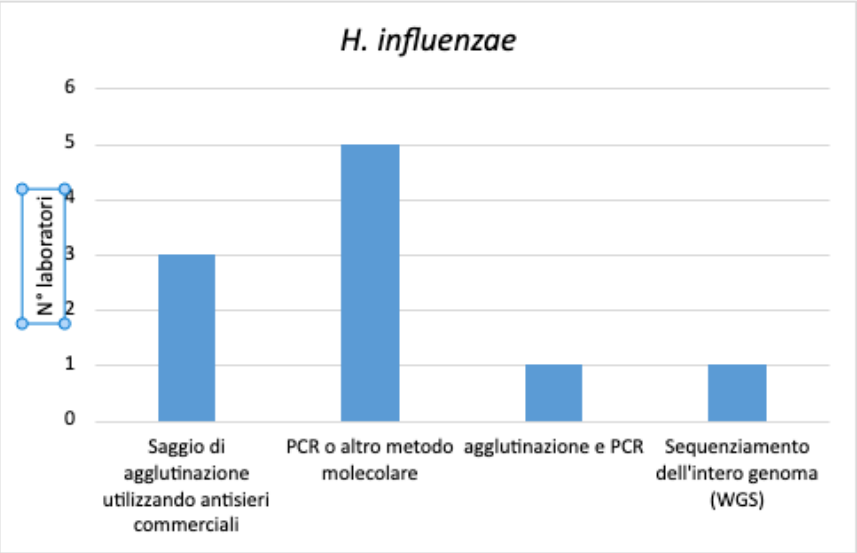


Figura 4. Metodi di sierotipizzazione di *H. influenzae*.

Da questi risultati si evince che la principale criticità identificata riguarda la capacità di tipizzazione microbiologica, in particolare per l'identificazione del sierogruppo/sierotipo. Tuttavia, va sottolineato che, sebbene la capacità di sierotipizzazione non sia diffusa tra i laboratori ospedalieri, le attività svolte dai Centri di Riferimento Regionali, dove istituiti, hanno permesso di raggiungere, a livello periferico e senza il contributo del Laboratorio Nazionale di Riferimento, una proporzione di casi sierotipizzati pari al 57,4% per Sp, 62,5% per Hi e 69,5% per Nm nel 2024 (dati provenienti dalla piattaforma MaBI: https://mabi.iss.it/). Le attività pianificate sono:

Attività 1: Potenziamento delle capacità di tipizzazione microbiologica nei laboratori ospedalieri che attualmente non effettuano l'identificazione del sierogruppo/sierotipo per i tre patogeni.

Questa attività prevede la consultazione e la valutazione delle esigenze specifiche dei singoli laboratori a livello regionale, la condivisione dei protocolli di sierotipizzazione e attività di formazione (su richiesta). Per i laboratori che non sono in grado di adottare autonomamente tali metodi, sarà garantito un supporto tecnico e scientifico per la conferma diagnostica e la tipizzazione degli isolati batterici mediante l'invio di ceppi o campioni biologici al Laboratorio Nazionale di Riferimento.

Attività 2: Attività di informazione e divulgazione per migliorare l'adesione alla sorveglianza.

Un workshop sulla sorveglianza MaBI sarà organizzato entro la fine del progetto per fornire aggiornamenti microbiologici ed epidemiologici e per rafforzare la partecipazione attiva al sistema di sorveglianza. Il workshop sarà rivolto ai rappresentanti regionali di microbiologi e specialisti in malattie infettive, epidemiologi, rappresentanti del Ministero della Salute, delle Società Scientifiche Nazionali e delle autorità sanitarie regionali. Offrirà l'opportunità di discutere lo stato dell'arte, condividere le esperienze e affrontare le criticità emerse, contribuendo così al rafforzamento del coordinamento nazionale, all'armonizzazione delle procedure e al miglioramento delle strategie di prevenzione e controllo.

5. Patogeni batterici enterici (Sorveglianza Enter-Net Italia)

Responsabili: Laura Villa, Claudia Lucarelli, Aurora Garcia-Fernandez

Background e criticità

Le malattie a trasmissione alimentare (MTA) sono causate dal consumo di alimenti contaminati da batteri, tossine, virus e parassiti nocivi, non cotti o manipolati correttamente; possono causare gastroenteriti e febbre fino a forme cliniche invasive più gravi come batteriemia, meningite o essere associate a sequele croniche come l'artrite reattiva, infiammazioni a carico di fegato e reni o la sindrome di Guillain-Barré. Tra le infezioni di origine zoonotica a trasmissione alimentare più diffuse a livello europeo si osservano le infezioni da *Campylobacter* e da *Salmonella*, responsabili rispettivamente di 168.396 e 79.703 casi nel 2024, rispettivamente.

Le infezioni da *Salmonella* si distinguono in forme tifoidee, causate da *S.* Typhi e da *S.* Paratyphi, a trasmissione principalmente interumana, e forme non tifoidee (NT) causate da oltre 2.500 sierotipi di *Salmonella*, responsabili prevalentemente di forme di infezioni gastroenteriche. Queste ultime sono una delle cause più comuni di tossinfezione alimentare nel mondo. Il principale serbatoio è rappresentato da varie specie animali sia da reddito che selvatiche e possono essere la fonte diretta di contagio oppure la via di trasmissione attraverso il consumo di alimenti o acque contaminati.

La campilobatteriosi è una delle malattie batteriche gastrointestinali più diffuse al mondo. L'infezione da *Campylobacter* nell'uomo è prevalentemente associata al consumo di carne di pollo non ben cotta; tuttavia, episodi epidemici sono stati riportati in associazione con il consumo di acqua impropriamente trattata o di latte non pastorizzato contaminato.

La sorveglianza Enter-Net Italia si prefigge l'obiettivo di descrivere l'epidemiologia degli enterobatteri isolati dall'uomo in Italia, per favorire l'identificazione, il controllo e la prevenzione dei casi e dei focolai epidemici con una visione integrata con gli enti competenti della sanità animale, alimentare ed ambientale. Il sistema di sorveglianza, normato dal DPCM 03/03/2017, complementa l'attività del sistema di notifiche ufficiali di malattia, PREMAL, raccogliendo informazioni microbiologiche ed epidemiologiche sugli isolati da casi umani di *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Shigella* spp., *Yersinia* spp. e *Vibrio* spp.

Gli obiettivi del sistema di sorveglianza Enter-Net Italia sono:

-ottenere dati descrittivi su enterobatteri isolati dai casi definiti come sopra, incluse caratteristiche feno-genotipiche dei ceppi isolati attraverso protocolli standardizzati

-individuare eventi epidemici nazionali ed internazionali e, ove richiesto, collaborare con le autorità sanitarie competenti garantendo supporto epidemiologico e di laboratorio, e collegamento tra le varie istituzioni nazionali ed internazionali coinvolte

-monitorare l'antibiotico resistenza presente nei ceppi isolati ed eventuale studio e approfondimento molecolare dei meccanismi responsabili

-fornire ufficialmente i dati di sorveglianza alle istituzioni nazionali ed internazionali competenti e collaborare all'integrazione e alla diffusione delle informazioni tra gli enti competenti nei settori della salute pubblica, della sicurezza degli alimenti, della sanità animale e dell'ambiente, favorire lo sviluppo e la

disseminazione di materiali di riferimento e metodi, armonizzati tra i vari settori al fine di favorire l'analisi integrata delle informazioni di sorveglianza

-favorire l'ampliamento della sorveglianza Enter-Net Italia, a rappresentare tutto il territorio nazionale

-creare una piattaforma genomica a supporto della sorveglianza delle infezioni e dei focolai di origine alimentare mediante la raccolta e l'analisi automatizzata dei dati genomici (WGS) di agenti di malattie di origine alimentare, favorendo l'adeguamento, agli standard indicati dall'ECDC.

La rete di sorveglianza Enter-Net Italia è solida ed avanzata in alcune regioni del Paese. Ciò risulta più evidente nell'individuazione degli isolati di *Salmonella* nei casi umani che in quella di *Campylobacter*. Tuttavia, un'attenta analisi condotta nell'ambito del progetto ha evidenziato che le principali carenze si riscontrano nei seguenti ambiti:

- Copertura geografica: manca la sorveglianza microbiologica in quattro regioni per tutti gli agenti patogeni coperti dalla rete di sorveglianza Enter-Net Italia.
- Chiara identificazione dell'elenco dei Laboratori di Riferimento Regionali (LRR) designati dalle Regioni, in relazione ai compiti e agli agenti patogeni assegnati.
- La sorveglianza del *Campylobacter* dovrebbe essere attuata sia a livello nazionale che come capacità di identificazione regionale.
- La sorveglianza delle infezioni da *Vibrio* dovrebbe essere implementata sia a livello nazionale che come capacità di identificazione regionale.
- La capacità di eseguire test di sensibilità agli antimicrobici per le specie sotto sorveglianza dovrebbe essere rafforzata all'interno dei LRR.
- La capacità tecnica di sequenziamento del genoma completo (WGS) dovrebbe essere implementata a livello regionale per migliorare la capacità di individuare cluster di infezioni e confermare le fonti alimentari responsabili delle infezioni
- Sarebbe auspicabile l'integrazione dei dati provenienti dal sistema di segnalazione delle malattie infettive (PREMAL, gestito dal Ministero della Salute) e dal sistema di sorveglianza Enter-Net Italia.

Al fine di superare le criticità menzionate sarà pianificato un rafforzamento della sorveglianza a livello regionale (Enter-Net Italia) nelle aree in cui non è ancora stata istituita per ognuno dei seguenti patogeni enterici: *Salmonella, Campylobacter, Yersinia, Shigella* e *Vibrio*, ed estendere i sistemi esistenti laddove la copertura è attualmente limitata solo a una parte di tali patogeni. Gli obiettivi specifici sono:

- Effettuare una mappatura aggiornata delle autorità regionali competenti in materia di MTA al fine di agevolare la designazione dei Laboratori di Riferimento Regionali (LRR) per le MTA. (a partire dal M17)
- Redigere un elenco dei referenti regionali e dei laboratori di riferimento regionali per le MTA in relazione ai compiti e agli agenti patogeni assegnati (entro M24)
- Ricevere una copia degli atti ufficiali (decreti, risoluzioni, decisioni o altri atti formali) di designazione (entro M24)
- Mappare il flusso di dati e isolati relativi ai casi di malattie di origine alimentare associate a *Salmonella, Campylobacter, Yersinia, Shigella* e *Vibrio* (entro M28)

- Per le regioni in cui non esiste un laboratorio regionale di riferimento o in cui non vi è un adeguato flusso di dati e isolati, assistere le regioni nell'identificazione delle caratteristiche del laboratorio regionale di riferimento appropriato. (entro M36)
- Integrazione dei nuovi LRR nella rete di sorveglianza Enter-Net Italia (entro M48)

6. Resistenza agli antimicrobici (AMR)

Responsabili: Fortunato "Paolo" D'Ancona, Maria del Grosso, Giulia Errico, Monica Monaco

Background e criticità

In Italia, la resistenza agli antimicrobici (AMR) nel settore umano è monitorata tramite il Sistema Nazionale di Sorveglianza dell'antibiotico-resistenza (AR-ISS) e la Sorveglianza Nazionale delle infezioni del sangue (batteriemie) causate da *Enterobacterales* resistenti ai carbapenemi (CRE), entrambi coordinati dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) in collaborazione con il Ministero della Salute e le Regioni/Province Autonome (RR/APs).

I sistemi di sorveglianza AR-ISS e CRE sono stati inclusi nel Decreto del Primo Ministro (DPCM) del 3 marzo 2017, intitolato "Identificazione dei sistemi di sorveglianza e dei registri di mortalità, cancro e altre malattie", come sistemi di sorveglianza di rilevanza nazionale istituite a livello centrale presso l'ISS. AR-ISS si basa su una rete di laboratori ospedalieri di microbiologia distribuiti su tutto il territorio nazionale che annualmente, tramite il coordinamento RR/AP, inviano all'ISS i dati di sensibilità in vitro agli antibiotici ottenuti nell'ambito delle attività di routine. La copertura nazionale, al 2024, (espressa come la proporzione dei giorni di degenza in un anno, ottenuti dal Registro delle Dimissioni Ospedaliere (SDO), per gli ospedali che partecipano alla sorveglianza rispetto a tutti gli ospedali in Italia) è del 67,5%. I dati AMR si riferiscono a otto specie batteriche clinicamente ed epidemiologicamente rilevanti (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* ed *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter* spp.) responsabili di infezioni invasive (sangue e liquido cerebrospinale) come richiesto dal protocollo ECDC EARS-NET. I dati includono anche informazioni sulle caratteristiche dei pazienti (età e genere).

I laboratori AR-ISS rispettano standard di alta qualità e possiedono competenze tecniche di alto livello sia per le indagini fenotipiche che per quelle genotipiche, supportando le attività diagnostiche e la sorveglianza. I dati della sorveglianza AR-ISS vengono riversati in EARS-Net e, tramite l'ECDC, contribuiscono al sistema globale di sorveglianza della resistenza antimicrobica GLASS dell'OMS. Il protocollo AR-ISS viene aggiornato annualmente per raggiungere gli obiettivi del PNCAR e del GLASS. Nel 2026 è stato incluso un protocollo pilota sulla raccolta dati AMR per *Neisseria gonorrhoeae* (GONO-AMR) per garantire una sorveglianza omogenea e rappresentativa a livello nazionale e rafforzare il monitoraggio della resistenza di questo patogeno. Il sistema di sorveglianza AR-ISS è ben consolidato; tuttavia, la Commissione Europea richiede un ulteriore rafforzamento della risposta alle minacce transfrontaliere. In particolare, è necessario migliorare la tempestività nella disponibilità dei dati e potenziare l'accesso ai dati genomici relativi ai patogeni ad alto impatto sulla salute pubblica. Per raggiungere tali obiettivi, il sistema attuale di sorveglianza dell'AMR necessita di una trasformazione profonda verso la digitalizzazione/automazione del flusso dati, l'interoperabilità dei sistemi/piattaforme di laboratorio per la raccolta automatica e l'analisi dei dati, la segnalazione rapida di allerte per organismi multiresistenti ai farmaci (MDRO), il superamento dell'eterogeneità regionale, la sorveglianza genomica sistematica per gli MDRO. Sulla base del progetto EHR-BSI E-SURE, finanziato dall'ECDC, con l'obiettivo di raccogliere dati sulle infezioni del sangue associate all'assistenza sanitaria da cartelle cliniche elettroniche (EHR-BSI), è stato preparato un protocollo, in accordo con tre regioni italiane, per definire le variabili e le metodologie per la comunicazione dei dati a

livello nazionale ed ECDC. I risultati verranno utilizzati come base per le attività di PROVIDENT mirate al miglioramento della sorveglianza dell'AMR.

Attività 1: integrazione del protocollo italiano EHR-BSI nel protocollo AR-ISS

Come già dimostrato nel progetto pilota E-SURE EHR-BSI, i dati possono essere raccolti dalle stesse reti regionali di laboratori che partecipano alla raccolta dati AR-ISS. L'attività pianificata prevede l'integrazione del protocollo italiano EHR-BSI nel protocollo AR-ISS per raccogliere, da alcune reti di laboratori regionali, i dati di sorveglianza AMR, insieme ad altri dati con maggiore tempestività, in accordo con il WP3. L'obiettivo sarà quello di studiare e testare la fattibilità di questa raccolta dati unita AR-ISS + EHR-BSI mediante:

- studio della fattibilità teorica (entro M24)
- preparazione di un protocollo congiunto (entro M24)
- consultazione con la rete AR-ISS sulla bozza del protocollo congiunto (entro M24)
- finalizzazione del protocollo e consultazione con il DPO (entro M24)
- raccolta dei dati pilota e pubblicazione del protocollo congiunto (entro M36)
- prima chiamata congiunta di dati (entro M40)

7. Epidemiologia

Responsabili: Patrizio Pezzotti, Antonino Bella, Martina del Manso, Alberto Mateo Urdiales, Chiara Sacco, Paolo Fortunato D'Ancona, Francesco Venuti

Background e criticità

In Italia, il quadro normativo stabilisce che la sorveglianza delle malattie infettive sia coordinata dal Ministero della Salute e dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS).

Il decreto del Presidente del Consiglio dei ministri (DPCM) del 3 marzo 2017 ha istituito i sistemi di sorveglianza e i registri di rilevanza nazionale e regionale, e disciplina la raccolta e la gestione sistematica dei dati epidemiologici per finalità di sanità pubblica. In particolare, con tale decreto, le Sorveglianze Speciali sono state istituite presso l'ISS e il Sistema di segnalazione delle malattie infettive (PREMAL) presso il Ministero della Salute.

PREMAL raccoglie informazioni sulle malattie soggette a notifica obbligatoria inviate dalle Aziende Sanitarie Locali (ASL) alle Regioni e al Ministero della Salute. Il ministero della Salute attraverso il Decreto attuativo del 7 marzo 2022, ha disciplinato il sistema di sorveglianza PREMAL. Tale Decreto disciplina l'organizzazione e il funzionamento presso il Ministero della Salute del sistema di segnalazione delle malattie infettive, denominato PREMAL, individuando i soggetti che possono avervi accesso, le finalità, le operazioni eseguibili, i tipi di dati che possono essere trattati, nonché le misure appropriate e specifiche per tutelare i diritti fondamentali e gli interessi dell'interessato. Inoltre, il decreto disciplina, in particolare, le modalità di segnalazione, raccolta, elaborazione e utilizzo dei dati relativi alle malattie infettive, che vengono diagnosticate sul territorio nazionale nonché a bordo delle navi e degli aeromobili presenti sul territorio nazionale

PREMAL ha una struttura modulare: ciò significa che dovrebbe essere possibile raccogliere tutte le informazioni rilevanti per le patologie per le quali la sorveglianza è stata istituita. Tuttavia, cambiamenti significativi, come l'aggiunta di nuove malattie (ad esempio il mpox), o l'aggiunta di nuove informazioni da raccogliere, richiedono un aggiornamento della normativa vigente, un processo che può richiedere tempi lunghi. Le Regioni e le ASL trasmettono i dati a PREMAL con vari livelli di automazione. Inoltre, PREMAL potrebbe non essere in grado di ospitare determinati sistemi di sorveglianza specifici per malattie o condizioni quali le infezioni da virus respiratori o la resistenza antimicrobica.

Le "Sorveglianze Speciali"

PREMAL coesiste con sistemi di sorveglianza specifici per patologia coordinati dall'ISS, comunemente definiti "Sorveglianze speciali", operativi da molti anni. Questi sistemi (specifici per singolo patogeno o per classe di patogeni) sono stati creati per raccogliere informazioni specifiche distintive dei patogeni stessi, che richiedono informazioni epidemiologiche aggiuntive, spesso integrate con dati di laboratorio, rispetto ai patogeni soggetti a sorveglianza di routine. A tal fine, l'ISS gestisce più piattaforme per ogni sistema di sorveglianza speciale (es. virus respiratori, arbovirosi, ecc.).

Processo di valutazione e ottimizzazione

Al fine di disciplinare le Sorveglianze Speciali, attraverso l'emanazione di Decreti attuativi, l'ISS ha avviato un processo di revisione documentale delle piattaforme, per stabilire le finalità, gli utenti che accedono e le informazioni raccolte dalle singole Sorveglianze Speciali.

Questo processo di valutazione dei sistemi di sorveglianza speciali per i patogeni soggetti a segnalazione sia a PREMAL che alla sorveglianza, è stato attivato anche al fine di ottimizzare i flussi, per ridurre lacune e ridondanze.

La valutazione mira a evidenziare non solo la scelta della piattaforma utilizzata per gestire i dati, ma anche le molteplici funzioni e attività che un sistema di sorveglianza deve svolgere. Queste includono:

- Garantire la completezza dei casi
- Assicurare la coerenza e la qualità complessiva dei dati
- Fornire informazioni tempestive attraverso una reportistica periodica
- Garantire la trasmissione dei dati alle istituzioni sanitarie internazionali (ECDC, OMS)

Questo processo di revisione, guidato dal Reparto di Epidemiologia, Biostatistica e Modelli Matematici del Dipartimento di Malattie Infettive dell'ISS con il coinvolgimento di esperti del Ministero della Salute, include i seguenti sistemi di sorveglianza:

- HIV/AIDS
- Epatiti virali acute
- Malattie batteriche invasive
- Morbillo e rosolia
- Resistenza antimicrobica
- Malattie trasmesse da vettori
- Legionellosi
- Malattie sessualmente trasmissibili
- Enterobatteri
- Botulismo
- Virus respiratori

Il processo sta mettendo in luce criticità sia generali che specifiche, discusse qui di seguito.

Criticità generali

Duplicazione dei dati: diversi sistemi raccolgono le medesime informazioni; ad esempio, una Regione deve inserire i dati sia in PREMAL che nella piattaforma della sorveglianza speciale dell'ISS, oltre che nella propria piattaforma regionale. Ciò crea inefficienza e porta a incongruenze nei dati pubblicati. L'obiettivo è la creazione di un'unica piattaforma nazionale che consenta la cooperazione applicativa: una volta inseriti i dati nel sistema regionale, questi dovrebbero essere trasferiti automaticamente a quello nazionale.

Privacy e normativa: al momento sussistono lacune normative e di privacy per le piattaforme ISS. La mancanza di regolamenti chiari può influire sulla raccolta dei dati regionali. L'obiettivo è fornire un quadro normativo (tramite decreti attuativi) che offra una guida chiara sulle caratteristiche di ogni piattaforma gestita dall'ISS.

Criticità specifiche

Queste vengono identificate attraverso la compilazione di un foglio di calcolo che confronta tutte le variabili raccolte dai due sistemi, evidenziando somiglianze e differenze. Inoltre, viene redatto un documento descrittivo per ogni patogeno o classe di patogeni per evidenziare eventuali peculiarità che richiedano una piattaforma di sorveglianza dedicata.

In conclusione, questo processo porterà a un quadro unificato che regolamenterà le piattaforme di sorveglianza in base alle caratteristiche specifiche dei patogeni, definendo chiaramente i processi e i ruoli delle istituzioni responsabili della gestione delle attività di sorveglianza.

Le attività pianificate sono:

Attività 1: Completamento della valutazione delle sorveglianze

L'attività si concentrerà sul completamento del processo di valutazione dei seguenti sistemi di sorveglianza:

- HIV/AIDS
- Epatiti virali acute
- Malattie batteriche invasive
- Morbillo e rosolia
- Resistenza antimicrobica
- Malattie trasmesse da vettori
- Legionellosi
- Malattie sessualmente trasmissibili
- Enterobatteri (Enter-NET)
- Botulismo
- Virus Respiratori

Il processo consisterà nella creazione e compilazione di un foglio di calcolo, elencando tutte le variabili raccolte dai due sistemi di sorveglianza, evidenziando somiglianze e differenze. Inoltre, viene creato un file di testo che descrive i flussi di dati e i processi inerenti al sistema di sorveglianza per ogni singolo patogeno o classe di patogeni. Questo file evidenzierà le possibili peculiarità intrinseche alle caratteristiche del patogeno che potrebbero richiedere una piattaforma dedicata per la sua sorveglianza.

Una volta completato questo processo, i risultati saranno discussi con tutti i portatori di interesse (stakeholder) competenti e verrà avviata la migrazione delle sorveglianze selezionate (si veda l'Attività 2).

Gli obiettivi specifici sono di finalizzare il processo di valutazione dei sistemi di sorveglianza, discutere con i portatori di interesse (stakeholder) competenti (Ministero della Salute, Regioni, ISS) i risultati di questo processo di valutazione, e decidere quali sorveglianze saranno incluse in PREMAL e quali saranno considerate "sorveglianze speciali" e gestite dall'ISS.

In termini di output, l'attività prevede:

- la creazione di un foglio di calcolo che elenca tutte le variabili raccolte dai sistemi di sorveglianza presi in esame, evidenziandone somiglianze e differenze.
- la creazione di un file di testo che descrive i flussi di dati e i processi inerenti al sistema di sorveglianza per ogni singolo patogeno o classe di patogeni.
- La condivisione dei verbali delle riunioni in cui verranno discussi i risultati della valutazione.

Attività 2: Migrazione dei sistemi di sorveglianza e formazione

Questa attività si concentrerà sull'attuazione di quanto deciso a seguito del processo di valutazione. Ciò includerà la garanzia che la migrazione dei dati (da/verso PREMAL) venga eseguita correttamente e in conformità con un decreto normativo, e che il sistema PREMAL sia perfezionato per rispondere alle caratteristiche dello specifico sistema di sorveglianza. Inoltre, sarà erogata attività di formazione al personale che sarà assegnato a una specifica sorveglianza. Infine, verrà definito il quadro normativo entro il quale opererà il sistema di sorveglianza.

Pertanto, gli obiettivi specifici di questa attività sono di:

- Garantire la migrazione dei dati, il trasferimento delle informazioni necessarie e la formazione per il personale addetto alle attività di sorveglianza.

- Assicurare che PREMAL sia perfezionato per la specifica sorveglianza in fase di trasferimento (es. Legionella).
- Svolgere l'attività normativa per adeguare l'attuale quadro di riferimento in modo che rifletta l'appropriato flusso di dati della sorveglianza (ossia, rimuovendo la scheda per l'influenza dal decreto PREMAL e redigendo un decreto per regolamentare il flusso RespiVirNet).

In termini di output, l'attività prevede:

- Decreti legislativi e quadro di riferimento normativo
- Report delle attività normative
- Report delle riunioni

8. Protozoi parassiti gastrointestinali

Responsabili: Marco Lalle, Simone M. Cacciò

Background e criticità

La criptosporidiosi e la giardiasi sono due malattie gastrointestinali causate da protozoi parassiti dei generi *Cryptosporidium* e *Giardia*, rispettivamente. Entrambe hanno una distribuzione cosmopolita e una epidemiologia complessa in ragione dell'esistenza di molteplici vie di trasmissione dirette ed indirette (attraverso acqua e alimenti contaminati).

L'uomo può essere infettato da diverse specie di *Cryptosporidium*, sebbene *C. hominis*, una specie tipicamente antroponotica, e *C. parvum*, una specie zoonotica, sono responsabili della maggior parte delle infezioni. Per quanto riguarda *Giardia duodenalis*, due gruppi genetici, noti come assemblaggi A e B, sono in grado di infettare l'uomo ed altri mammiferi, ed hanno un potenziale zoonotico, seppure ancora dibattuto.

Dal punto di vista dell'impatto sulla salute, la criptosporidiosi può risultare una malattia severa, talvolta fatale, nei soggetti con sistema immunitario compromesso e nei bambini molto piccoli, mentre episodi di infezione ricorrente con *Giardia* sono stati messi in relazione con la malnutrizione e con il ritardo nella crescita nei bambini e negli animali molto giovani.

Il trattamento della criptosporidiosi e della giardiasi è difficile poiché sono disponibili pochi armaci, spesso di scarsa efficacia per i soggetti a maggior rischio di infezione severa, e non esistono ad oggi vaccini per uso umano. Inoltre, si è osservato un continuo aumento dei casi di giardiasi refrattari al trattamento.

In Italia, la criptosporidiosi e la giardiasi sono state solo recentemente (2023) incluse nella lista delle malattie a notifica obbligatoria del PREMAL. Tuttavia, un sistema di sorveglianza attivo non è ancora operativo e di conseguenza non disponiamo di informazioni che chiariscano l'impatto di queste malattie nel nostro Paese. I dati di letteratura, in maggior parte derivanti da progetti di ricerca, indicano che *Cryptosporidium parvum* rappresenta il principale patogeno umano in Italia ed è anche una diffusa causa di diarrea negli animali, specie nei ruminanti molto giovani. Inoltre, è stata dimostrata la contaminazione delle acque con questo patogeno, e due epidemie legate al consumo di acqua potabile sono state descritte in Italia.

Riguardo a *Giardia*, un recente studio osservazionale, condotto principalmente nel Nord Italia, ha mostrato come l'1% dei pazienti con malattia gastrointestinale fosse positivo per questo patogeno. Dati simili sono disponibili da studi condotti nell'Italia centrale e meridionale, a conferma del fatto che *Giardia* è il patogeno intestinale più comunemente identificato nel nostro Paese. Tuttavia, pochissimi dati sono disponibili sugli assemblaggi e sui genotipi che causano infezione nell'uomo. Una recente epidemia legata al consumo di acqua potabile, avvenuta nel Nord Est, è stata attribuita all'assemblaggio B di *Giardia*. La circolazione degli assemblaggi A e B negli animali domestici in Italia è anche accertata.

Da questi dati, risulta evidente che le maggiori lacune riguardano una incompleta comprensione della epidemiologia di questi patogeni, incluso il ruolo degli animali e dell'ambiente, e, soprattutto, la mancanza di dati molecolari utili a definire le specie ed i genotipi parassitari che circolano in Italia. Per cercare di colmare queste lacune, è stato sviluppato un questionario con Microsoft Forms

(https://forms.office.com/e/SrEr5GnJyB) che conteneva domande sul numero di diagnosi effettuate negli ultimi 36 mesi e sulle tecniche impiegate nella routine diagnostica.

Il questionario è stato reso disponibile ad un vasto numero di laboratori operanti in ambito di salute pubblica, veterinaria ed ambientale. I dati sono stati raccolti nel periodo novembre 2025-gennaio 2026, ed il numero complessivo di risposte è risultato pari a 196. Circa la metà delle risposte provenivano da Ospedali o laboratori di analisi cliniche.

L'analisi dei dati ha mostrato che laboratori con capacità diagnostica per il rilevamento delle infezioni causate da *Cryptosporidium* e *Giardia* sono presenti in tutte le regioni Italiane, seppure con numeri molto variabili (Tabella 1).

Tabella 1. Distribuzione per regione del numero di laboratori che hanno risposto al questionario.

Regione	N. di laboratori	Regione	N. di laboratori
Abruzzo	2	Piemonte	11
Basilicata	1	Puglia	8
Calabria	2	Sardegna	1
Campania	4	Sicilia	22
Emilia-Romagna	8	Toscana	12
Friuli-Venezia Giulia	3	Trentino-Alto Adige	3
Lazio	14	Umbria	3
Liguria	3	Valle d'Aosta	1
Lombardia	76	Veneto	11
Marche	6	Non definito	4
Molise	1	Totale	196

In secondo luogo, è stato calcolato il numero di test diagnostici positivi per *Cryptosporidium* e/o per *Giardia* osservati ogni anno nelle strutture Italiane. Come si evince dalla Tabella 2, la maggior parte dei laboratori riporta un numero relativamente modesto di campioni positivi per i due parassiti. Va sottolineato come circa il 20% dei laboratori ha dichiarato di non aver effettuato test diagnostici per *Cryptosporidium* e *Giardia* negli ultimi tre anni, mentre il 13% ha dichiarato di effettuare solamente diagnosi per *Giardia*.

Tabella 2. Si riporta il numero totale di campioni esaminati per anno insieme al numero di campioni trovati positivi per *Cryptosporidium* e *Giardia*.

N. campioni per anno	N. di positivi per anno (*Cryptosporidium*)				N. di positivi per anno (*Giardia*)			
	0	**1-10**	**10-50**	**>50**	**0**	**1-10**	**10-50**	**>50**
1-100	6	2	0	0	5	3	0	0
100-500	13	11	1	0	5	18	3	1
500-1000	11	3	1	0	6	8	1	0
>1000	25	52	8	2	14	39	0	9
Totale	55	68	10	2	30	68	4	10

Il terzo aspetto preso in considerazione nell'analisi dei questionari riguardava i metodi diagnostici in uso nelle diverse strutture. I metodi sono stati categorizzati in microscopici, molecolari o immunologici (e loro combinazioni) in funzione del principio alla base del metodo stesso. Circa un terzo dei laboratori ha dichiarato di effettuare la diagnosi con metodi microscopici o immunologici, mentre circa il 60% dei laboratori ha dichiarato di utilizzare metodi molecolari, spesso in combinazione con metodi microscopici o immunologici. Va ricordato che i metodi microscopici e quelli immunologici non consentono l'identificazione delle specie o dei genotipi di *Cryptosporidium* e di *Giardia*, mentre l'ottenimento di queste informazioni a seguito dell'utilizzo di metodi molecolari dipende dalla esatta natura del metodo scelto. Per tale ragione, il questionario permetteva ai partecipanti di precisare il metodo molecolare in uso nelle loro strutture, e il risultato è presentato nella Figura 1. Come riportato, nella maggioranza dei laboratori vengono utilizzati metodi di qPCR (amplificazione PCR in tempo reale) che consentono l'identificazione simultanea di molti patogeni gastrointestinali, ma che non permettono di identificare i parassiti a livello di specie o di genotipo.

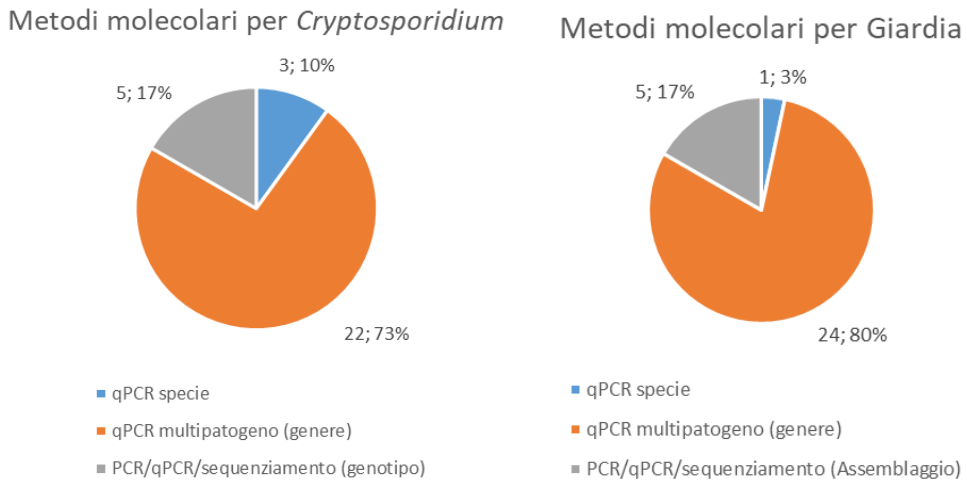


Figura 1. Distribuzione delle tecniche di diagnostica molecolare (suddivisi per metodica e livello di

identificazione, es. genere, specie, genotipo) per *Cryptosporidium* e *Giardia.*

In conclusione, l'analisi di 196 questionari ha permesso di evidenziare le seguenti criticità:

- Numerose strutture (20%) non effettuano diagnosi per *Cryptosporidium* o *Giardia*, nonostante le malattie causate da questi parassiti siano orami incluse tra quelle a notifica obbligatoria.
- Un numero importante di laboratori che effettuano diagnosi per *Cryptosporidium* o *Giardia* si avvalgono di tecniche microscopiche o immunologiche, che non consentono di identificare i parassiti a livello di specie o di genotipo.
- Un numero crescente di laboratori utilizza metodi molecolari, ma molto spesso questi sono disegnati per accertare la presenza del parassita e non per fornire informazioni sulla specie o sul genotipo presenti.
- La sostanziale assenza di informazioni sulle specie e sui genotipi associati alle infezioni nell'uomo e negli animali, o che circolano nell'ambiente, implica che le vie di trasmissione di *Cryptosporidium* e di *Giardia* in Italia permangono poco conosciute.

Sulla base di queste osservazioni sono state pianificate una serie di attività allo scopo di colmare le lacune messe in evidenza sia dai dati di letteratura che dall'indagine svolta mediante il questionario. Nello specifico, le attività pianificate sono:

Attività 1: Creazione di una rete di laboratori di competenza regionali

La mancanza di una rete di laboratori con la capacità di diagnosticare *Cryptosporidium* e *Giardia* in modo esaustivo, fornendo quindi anche informazioni riguardo specie e genotipi, è di cruciale importanza al fine di comprendere l'epidemiologia di questi parassiti sul territorio italiano, fornendo gli strumenti per tracciare le fonti di infezioni in caso di focolai epidemici. La presenza di almeno un laboratorio in grado di fornire questo servizio di analisi, auspicabilmente uno per Regione, fungendo da collettore per ospedali o centri diagnostici, permetterebbe di processare in modo efficiente e tempestivo un maggior numero di campioni con il medesimo standard analitico. Ad oggi, non esiste in Italia una rete di laboratori di competenza regionale (LCR) incaricata ufficialmente della raccolta di campioni e dei metadati di interesse, né della caratterizzazione a livello molecolare dei parassiti *Cryptosporidium* e *Giardia*. L'obiettivo di questa attività è di creare una rete di centri di riferimento in stretta collaborazione con le autorità sanitarie presenti nelle diverse regioni Italiane. Per identificare tali centri, si prevede di interagire con referenti regionali, possibilmente mediante il Coordinamento Interregionale Prevenzione (CIR).

L'attività si prevede conclusa entro M20

Attività 2: Formazione

Scopo di questa attività è fornire supporto per l'implementazione di metodi molecolari utili per la caratterizzazione delle specie e dei genotipi di *Cryptosporidium*, o dei gruppi genetici (assemblaggi) di *Giardia*. Tali metodi saranno basati sulla amplificazione in vitro e successivo sequenziamento di specifici marcatori genetici. Le attività di supporto intendono coprire tutte le fasi del metodo, dalla estrazione del DNA dai campioni fecali, alla amplificazione e al sequenziamento dei marcatori genetici, fino alla analisi delle sequenze. Si prevedono sia formazione in presenza che a distanza, da indirizzare principalmente a professionisti operanti nel contesto di salute pubblica. La durata del corso sarà di 5 giorni in presenza e

potrà essere integrata con attività da remoto (in particolare per l'analisi delle sequenze).

L'attività si prevede conclusa entro M28 con la produzione di materiali informativi (sia cartacei che video).

Attività 3: Test di competenza (Prove Valutative Interlaboratorio, PVI)

L'attività ha lo scopo, attraverso un test di competenza, di verificare la corretta implementazione dei metodi molecolari nei laboratori di riferimento regionali che avranno effettuato la formazione. Il test sarà organizzato dall'ISS. I partecipanti riceveranno un pannello di campioni che comprenderà feci contaminate con (oo)cisti di *Cryptosporidium* e *Giardia* e feci non contaminate, nonché DNA già estratti dai due parassiti. I partecipanti dovranno applicare le metodiche molecolari apprese durante la formazione (attività 2).

L'attività sarà condotta a partire dal M28 e completata entro M36 con la produzione di un rapporto finale sui risultati dei test di competenza (Prove Valutative Interlaboratorio, PVI)

Attività 4: Indagine pilota

L'attività ha lo scopo di condurre un'indagine pilota sulle specie e sui genotipi di *Cryptosporidium* e *Giardia* che circolano nelle tre regioni partner del progetto (Lombardia, Toscana e Sicilia) per **f**ornire una istantanea della situazione attuale riguardo le infezioni umane. Campioni fecali positivi per i due parassiti verranno attivamente raccolti da una rete di Ospedali in ciascuna regione, insieme a dati clinici in forma anonima. I campioni verranno inviati all'ISS per la caratterizzazione molecolare. Verrà utilizzato un questionario per concordare le informazioni chiave che dovranno essere riportate, utili per il tracciamento di casi sporadici e di focolai di infezione, dei fattori di rischio associati e degli esiti clinici. I dati raccolti saranno stratificati sulla base di parametri quali l'età, il genere, gli eventuali viaggi all'estero e l'assunzione di farmaci antiparassitari.

Il campionamento e le analisi saranno realizzati tra M30 e M40.