



REGIONE DEL VENETO

giunta regionale

Data 06/05/2021 Protocollo N° 0209234 Class: G.920.01.1 Fasc.

Allegati N° 1 per tot.pag. 15

Oggetto: Piano campionamento ovino per l'identificazione dell'echinococcosi in macello e in allevamento

PEC

Ai Signori Direttori del Servizio:

- Igiene Alimenti di Origine Animale
- Sanità Animale
- Igiene degli Allevamenti e delle Produzioni Zootecniche

delle AULSS del Veneto

- Al Direttore Sanitario
Dell' IZS delle Venezie
- Al Direttore dell'SCS3 – Diagnostica specialistica,
istopatologia e parassitologia dell'IZS delle Venezie
- Al Direttore del CREV
c/o IZS delle Venezie

LORO SEDI

L'Istituto Zooprofilattico sperimentale della Sardegna, Centro Nazionale di Referenza per l'Echinococcosi/Idatidosi (CeNRE), ha stilato un Piano di campionamento per la ricerca di Echinococcosi Cistica in sede di macellazione degli ovini nell'ambito del piano di ricerca "Messa a punto di un sistema di sorveglianza attiva per stimare la reale prevalenza di Echinococcosi negli ovini in Italia".

Al fine di avviare il progetto, l'IZS della Sardegna ha coinvolto altri laboratori ed osservatori epidemiologici costituendo una rete che si propone di sperimentare l'applicazione di un modello di sorveglianza attiva che consenta la stima della reale prevalenza della malattia negli ovini, attraverso un piano codificato che raccolga le informazioni essenziali per raggiungere gli obiettivi della ricerca.

L'obiettivo principale che si prefigge tale ricerca è una stima quanto più corretta della prevalenza di *E. granulosus* nel territorio nazionale, attraverso una attività di sorveglianza nazionale attiva che attualmente manca. Una volta testato e validato, questo piano di sorveglianza potrà essere proposto al Ministero della Salute per l'applicazione ufficiale.

Area Sanità e Sociale

Direzione Prevenzione Sicurezza Alimentare Veterinaria – U.O. Veterinaria e Sicurezza Alimentare

Dorsoduro 3493 – 30123 Venezia – Tel.041/2791304 – Fax 04172791330

PEC: area.sanitasociale@pec.regione.veneto.it e-mail: saia@regione.veneto.it



Le informazioni utili alle SS.LL ai fini dello svolgimento del Piano sono contenute nel documento in allegato, al quale si rimanda; inoltre, ai fini di una corretta applicazione del Piano sul territorio veneto, in accordo con l'IZS delle Venezie, vengono fornite di seguito alcune indicazioni pratiche.

Presso i macelli:

l'Autorità competente locale:

- invia sistematicamente all'Izs delle Venezie, per le successive analisi parassitologiche, tutte le cisti trovate negli ovini macellati di età maggiore di 18 mesi, accompagnando il campione con il modulo di cui all'Allegato 2 del Piano;
- registra sistematicamente in GESVet (modulo "macelli"), ai fini della rendicontazione annuale, il rilievo di Echinococchi.

Presso gli allevamenti:

l'Autorità competente locale:

- invia sistematicamente all'Izs delle Venezie, per le successive analisi parassitologiche, tutte le cisti trovate negli ovini morti in allevamento di età maggiore ai 18 mesi, accompagnando il campione con il citato Allegato 2.

Ringraziando fin da ora per la collaborazione, si porgono cordiali saluti.

UNITÀ ORGANIZZATIVA
VETERINARIA E SICUREZZA ALIMENTARE
Il Direttore
- Dott. Michele Brichese -

Responsabile dell'istruttoria: Dott.ssa Alessandra Luisa Amorena
Responsabile dell'istruttoria: Dott.ssa Fiorenza Anfuso
Segreteria: Tel. 041-2791304

copia cartacea composta di 2 pagine, di documento amministrativo informatico firmato digitalmente da BRICHESE MICHELE, il cui originale viene conservato nel sistema di gestione informatica dei documenti della Regione del Veneto - art.22.23.23 ter D.Lgs 7/3/2005 n. 82

Area Sanità e Sociale
Direzione Prevenzione Sicurezza Alimentare Veterinaria – U.O. Veterinaria e Sicurezza Alimentare
Dorsoduro 3493 – 30123 Venezia – Tel.041/2791304 – Fax 04172791330
PEC: area.sanitasociale@pec.regione.veneto.it e-mail: saia@regione.veneto.it



ISTUTITO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA SARDEGNA "G. PEGREFFI"

Piano di campionamento ovino per Echinococcosi Cistica in sede di macellazione

Progetto di Ricerca Corrente "Messa a punto di un sistema di
sorveglianza attiva per stimare la reale prevalenza di
Echinococcosi negli ovini in Italia"

N. identificativo progetto: IZS SA 01/19 RC



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA SARDEGNA “G. PEGREFFI”

Indice

1. INTRODUZIONE	3
2. RIFERIMENTI NORMATIVI	5
3. OBIETTIVI GENERALI DEL PIANO	6
4. PROGRAMMAZIONE DELL'ATTIVITA' DI ISPEZIONE E CRITERI DI SELEZIONE.....	6
4.1 Programmazione dei controlli post-mortem in mattatoio su base regionale.....	7
4.2 Analisi diagnostiche delle cisti campionate.....	8
5. IMPLEMENTAZIONE E VALIDAZIONE DEL FLUSSO DATI.....	11
6. PIANO DI CONTROLLO DEL CAMPIONAMENTO.....	12
7. Allegato 1 Scheda di rilevazione positività al macello per Echinococcosi ovina.....	13
8. Allegato 2 Modulo Accompagnamento Campioni Di Cisti/Liquido Cistico.....	14



1. INTRODUZIONE

L'Echinococcosi cistica (EC), zoonosi parassitaria causata dal cestode *E. granulosus*, è una malattia inclusa nell'elenco ufficiale delle Malattie Tropicali Neglette (NTDs) stilato dall'OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità). Oltre a questo gruppo l'OMS ha identificato l'EC come appartenente al sottogruppo di 7 malattie zoonotiche endemiche neglette (NZDs). A livello globale, l'EC umana e animale rimane endemica nelle comunità pastorali che praticano l'allevamento estensivo, in particolare di quello degli ovini [1,2]. Gli ovini sono dunque una specie chiave nel ciclo della EC e gli allevamenti nei quali viene praticato uno scorretto management igienico (abbandono dei capi morti, macellazioni clandestine e mancato trattamento antiparassitario dei cani aziendali) sono il target di qualsiasi piano di controllo della malattia [3,4]. In Italia attualmente non esiste per l'EC un piano di sorveglianza attiva "su base armonizzata e con programma coordinato", così come da Direttiva 2003/99/CE recepita con Decreto legislativo 191 del 4 aprile 2006. Il monitoraggio riguardante la presenza di EC negli allevamenti ovini avviene esclusivamente per mezzo di sorveglianza passiva in sede di ispezione sanitaria post mortem, ovvero nei macelli. Non esistono pertanto sistemi di sorveglianza sufficientemente efficienti ed efficaci, tali da permettere di stimare la reale prevalenza dell'EC negli ovini. Allo stato attuale sono stati condotti solo studi di prevalenza basati su campionamenti "spot", non random ne ben distribuiti sul territorio, che apportano quindi dei bias sia in termini di distribuzione geografica che di continuità temporale, nonché legati alle opportunità degli operatori che li raccolgono (vicinanza nel territorio, disponibilità dell'allevatore, ecc...). Al fine di colmare la grave lacuna informativa sulla presenza della EC proprio in questa specie, sulla base dei risultati ottenuti nel progetto di ricerca corrente RC SA 08/14, nel progetto RC SA 01/19 si è costituito un network nazionale di 13 componenti tra OEV e laboratori che si interessano di diagnostica parassitologica negli IIZZSS. Il network costituito si propone di sperimentare l'applicazione di un modello di sorveglianza attiva che consenta la stima della reale prevalenza della malattia negli ovini, ovviando alle difficoltà di applicazione che caratterizzano le attività di monitoraggio esistenti. La ricerca si prefigge come obiettivo principale quello di una stima quanto più corretta della prevalenza di EC nel territorio nazionale. Inoltre il suddetto progetto intende porre le basi per la validazione della prevalenza della malattia precedentemente stimata, con un approccio One Health che prevede l'elaborazione dei dati di prevalenza reale negli ovini e i dati esistenti sulla distribuzione della



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA SARDEGNA “G. PEGREFFI”

EC umana. Una volta testato e validato questo piano di sorveglianza potrà essere proposto al Ministero della Salute per l'applicazione ufficiale. Al fine di perseguire in maniera corretta l'obiettivo principale e quelli secondari, risulta necessario stabilire un Piano di Campionamento (PdC) post-mortem degli ovini in sede di macellazione, e conseguentemente un Piano di Controllo del Campionamento (PCC). Questo piano sarà confrontato e corretto in itinere con la “stima della prevalenza” calcolata nel precedente lavoro di ricerca. La motivazione di fondo che spinge la ricerca ad intraprendere studi scientifici su un campione di popolazione, è infatti la possibilità di osservare un evento in una porzione di popolazione (campione) ed ottenere delle evidenze scientifiche che permettano di estendere i risultati all'intera classe di popolazione studiata, senza necessariamente osservare tale evento in tutti i soggetti. Affinchè lo studio che si vuole intraprendere sia quindi valido e con risultati generalizzabili, è necessario che il campione oggetto di studio sia selezionato in maniera casuale (random), che sia correttamente dimensionato, che rifletta le caratteristiche della “popolazione campionaria”, cioè di tutta la popolazione potenzialmente eleggibile per lo studio, e che tale campionamento avvenga in assenza di bias di selezione. Al fine di ottimizzare tempi e risorse già impiegate dai servizi veterinari (SV), si è ritenuto opportuno conciliare le attività del modello che si intende proporre con quelle del monitoraggio ufficiale del Piano Nazionale delle Encefalopatie Spongiformi Trasmissibili (TSE) ovi-caprine (Reg. n.999/2001/CE), in sede di macellazione e sui capi morti. Si potranno così esaminare gli ovini adulti (> 18 mesi) sui quali verrà eseguita l'ispezione dei visceri post-mortem per valutare l'eventuale presenza di cisti da *Echinococcus* spp. e il contestuale campionamento e invio dei campioni di cisti agli IZS territoriali per l'analisi della specie e del genotipo, così come suggerito dai pareri all'EFSA delle Agenzie europee per la sicurezza alimentare e sanità veterinaria (<https://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/en-36>). Il campionamento per EC basato sulle attività già svolte dai SV a livello regionale per il monitoraggio ufficiale delle TSE, consentono non solo un risparmio di risorse ma anche di assicurare un campionamento quanto più esente da un bias di selezione. Non essendo però attualmente presente un campionamento specifico per l'EC, essendo questa una proposta del tutto innovativa e non conoscendo quello che potrà essere l'esito di questa ne in termini di risposta da parte dei veterinari competenti ne in tutte le fasi della ricerca (selezione degli animali, controllo, invio dei campioni agli IZZSS), risulta necessario pensare preventivamente ad un piano finalizzato al controllo del suddetto



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA SARDEGNA "G. PEGREFFI"

campionamento, sulla base del quale il primo verrà modificato in itinere a seconda dell'evolversi del piano di monitoraggio TSE su base regionale, ma anche sulla base delle prevalenze riscontrate.

2. RIFERIMENTI NORMATIVI

Direttiva 2003/99/CE del 17 novembre 2003 sulle misure di sorveglianza delle zoonosi e degli agenti zoonotici, con lo scopo di garantire un'adeguata sorveglianza delle zoonosi, degli agenti zoonotici e della resistenza agli antimicrobici ad essi correlata e un'adeguata indagine epidemiologica dei focolai di tossinfezione alimentare, per consentire di raccogliere nella Comunità le informazioni necessarie ad una valutazione delle relative tendenze e fonti.

Decreto legislativo 191 del 4 aprile 2006 riguardante l'attuazione della Direttiva 2003/99/CE sulle misure di sorveglianza delle zoonosi e degli agenti zoonotici.

Regolamento (CE) N. 999/2001 del 22 maggio 2001 che stabilisce disposizioni per la prevenzione, il controllo e l'eradicazione di alcune encefalopatie spongiformi trasmissibili (TSE) negli animali, con applicazione alla produzione e all'immissione sul mercato di animali vivi e di prodotti d'origine animale e, in taluni casi specifici, alla esportazione degli stessi.

Regolamento (CE) N. 882/2004 del 29 aprile 2004 relativo ai controlli ufficiali intesi a verificare la conformità alla normativa in materia di mangimi e di alimenti e alle norme sulla salute e sul benessere degli animali



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA SARDEGNA "G. PEGREFFI"

3. OBIETTIVI GENERALI DEL PIANO

Gli obiettivi generali del presente Piano di Campionamento Nazionale sono di seguito elencati:

1. Calcolo e costituzione di un campione rappresentativo dell'intero patrimonio ovino nazionale sul quale condurre una ispezione dei visceri post-mortem in sede di macellazione relativamente alla presenza/assenza di cisti da *Echinococcus* spp, al fine di stimare una prevalenza di malattia sull'intero territorio nazionale;
2. Programmazione e valutazione dei controlli intraregionali sulla base della stima della prevalenza, del calcolo iniziale e delle eventuali modifiche in itinere sulla base del campionamento TSE per singola regione;
3. Fornire indicazioni operative e modalità di esecuzione dei controlli;
4. Stabilire i termini e le procedure per un campionamento e invio dei campioni di cisti agli IZS territoriali per l'analisi della specie e del genotipo;
5. Porre le basi per una verifica dell'efficacia e dell'efficienza del modello di sorveglianza attiva;
6. Verifica della conformità rispetto a quanto stabilito dalla Direttiva 2003/99/CE del 17 novembre 2003 sulle misure di sorveglianza delle zoonosi e degli agenti zoonotici;
7. Standardizzazione ed informatizzazione dei flussi informativi relativi alle positività da EC negli ovini.

4. PROGRAMMAZIONE DELL'ATTIVITA' DI ISPEZIONE E CRITERI DI SELEZIONE

In Italia attualmente è sempre più impellente la necessità di mettere in atto un piano di sorveglianza attiva per l'EC "su base armonizzata e con programma coordinato", così come da Direttiva 2003/99/CE recepita con Decreto legislativo 191 del 4 aprile 2006. Al fine di ottenere una buona base campionaria randomizzata ottimizzando sia i tempi che le risorse già impiegate dai servizi veterinari, si è ipotizzato di conciliare le attività del presente PdC con quelle del monitoraggio ufficiale del Piano Nazionale delle Encefalopatie Spongiformi Trasmissibili (TSE) ovi-caprine (Reg. n.999/2001/CE), in sede di macellazione e sui capi morti. Questo specifico monitoraggio infatti viene già eseguito routinariamente ed è ritenuto efficace. Nel dettaglio, il Regolamento Comunitario in materia di sorveglianza delle TSE ovine e caprine prevede l'esecuzione di un campione test di rapidi per specie (ovini e caprini) e per categoria



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA SARDEGNA “G. PEGREFFI”

(regolarmente macellati o trovati morti) sui capi di età >18 mesi; tale campione per l'anno 2019 risulta essere pari a minimo di 10.000 test.

Il Centro di Referenza per le Encefalopatie Spongiformi animali di Torino (CEA), sulla base di quanto stabilito dalla Commissione Europea con il Reg CE 999/2001, predispone la ripartizione regionale dei campioni da prelevare utilizzando i dati presenti in Banca dati Nazionale (BDN) per i capi morti e i volumi delle macellazioni forniti da ciascuna Regione o Provincia autonoma. Il flusso dati e campioni per TSE, di comprovata efficacia, è stato organizzato avvalendosi dell'azione concertata dei diversi servizi veterinari nelle aree di Sanità Animale e Ispezione degli Alimenti di O.A. Le indicazioni relative ai capi da controllare vengono trasmesse dall'area di Sanità Animale direttamente allo stabilimento di macellazione, in accompagnamento ai capi da macellare. Al momento della macellazione avviene un aggiornamento dell'elenco dei capi da sottoporre a monitoraggio consentendo così un continuo controllo della progressione del monitoraggio stesso.

Avvalendosi di questo sistema di campionamento, avviato da diverso tempo e quindi solido, in grado di assicurare un campione quanto più randomizzato, si intendono quindi esaminare gli stessi ovini adulti (> 18 mesi) campionati per TSE, sui quali verrà eseguita l'ispezione dei visceri post-mortem per valutare l'eventuale presenza di cisti da *Echinococcus* spp. Al fine di validare i risultati di stima della prevalenza di EC ottenuti nel lavoro precedentemente citato (Loi et al., 2019), il monitoraggio sui capi esaminati per TSE dovrà essere adeguatamente distribuito in ogni regione sulla base della prevalenza stimata di EC. Gli IZZSS o gli Osservatori Epidemiologici Veterinari Regionali (OEVR) coinvolti e che hanno aderito al presente progetto ricoprono in totale 20 regioni d'Italia (Tabella 1).

4.1 Programmazione dei controlli post-mortem in mattatoio su base regionale

Trattandosi di uno studio pilota, avente come obiettivo non solo quello della stima dell'EC ma anche quello della possibilità di affiancare il controllo per le positività di EC a quello già presente per TSE, e conseguentemente la validazione del flusso dati, il numero di animali da campionare nelle varie regioni sarà strettamente dipendente da quello per le TSE, e potrà essere modificato in aumento o decremento secondo il PdC di cui al Punto 5 del presente documento. Verranno pertanto condotte delle analisi *ad interim* al raggiungimento del 30% del campione previsto per ogni Regione. In particolare, partendo dalle stime di prevalenza di EC



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA SARDEGNA “G. PEGREFFI”

stimata nel lavoro precedente (Tabella 2), al fine di osservare una prevalenza di malattia quanto più vicina alla stima, con un livello di confidenza del 95% con una potenza dell'80% ($\alpha - 0.05$, test a due code), per ogni regione si prevede un numero di animali da campionare come riportato in Tabella 2. Si specifica che, per le regioni come la Sicilia, per le quali non sono presenti informazioni riguardo le positività di EC non avendo aderito al precedente progetto, e per le quali dunque non è stata stimata una prevalenza di malattia, il calcolo del campione da esaminare è stata effettuato utilizzando i dati di prevalenza mediani nazionali.

Tabella 1. Unità Operative impegnate nella ricerca, Ente e Responsabile Scientifico e relative Regioni Italiane

UNITA' OPERATIVA	ENTE APPARTENENZA	REGIONE	RESPONSABILE SCIENTIFICO
U.O.1	IZS Sardegna-CeNRE	SARDEGNA	G. Masala
U.O.2	IZS Sardegna-OEV	SARDEGNA	S. Rolesu
U.O.3	IZS Venezia	VENETO	G. Capelli
U.O.4	IZS Lazio e Toscana	LAZIO TOSCANA	A. Carvelli
U.O.5	IZS Piemonte Valle d'Aosta	PIEMONTE VALLE D'AOSTA	C. Bona
U.O.6	IZS Umbria Marche	UMBRIA MARCHE	C. Maresca
U.O. 7	IZS Umbria Marche	UMBRIA MARCHE	S. Crotti
U.O.8	IZS Sicilia	SICILIA	V. Di Marco
U.O.9	IZS Lombardia Emilia Romagna	LOMBARDIA EMILIA ROMAGNA	A. Santi
U.O.10	IZS Lombardia Emilia Romagna	LOMBARDIA EMILIA ROMAGNA	D. Avisani
U.O.11	IZS Mezzogiorno	CAMPANIA CALABRIA	L. Baldi
U.O. 12	IZS Puglia e Basilicata	PUGLIA BASILICATA	M.C. Nardella
U.O. 13	IZS Abruzzo e Molise	ABRUZZO MOLISE	P. Colangeli



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA SARDEGNA “G. PEGREFFI”

Tabella 2. Stima della prevalenza espressa come percentuale e Intervalli di Confidenza (%; IC85%); numerosità campionaria (N); soglia di capi da campionare (30% di N) al raggiungimento della quale verranno effettuate le analisi *ad interim*.

REGIONE	PREVALENZA EC STIMATA (%; IC95%)	Capi da esaminare (N)	30% di N
ABRUZZO	2.27 (0.95 - 5.06)	75	23
BASILICATA	12.38 (7.49 - 18.88)	70	21
CALABRIA	0.83 (0.32 - 2.31)	100	30
CAMPANIA	1.97 (0.88 - 4.41)	87	26
EMILIA-ROMAGNA	0.81 (0.27 - 2.50)	75	23
LAZIO	1.87 (0.83 - 4.10)	100	30
LOMBARDIA	0.27 (0.092 - 0.94)	160	48
MARCHE	2.49 (1.15 - 5.20]	88	27
MOLISE	0.81 (0.030 - 2.29)	98	29
PIEMONTE	7.64 (4.12 - 13.04)	65	20
PUGLIA	6.32 (3.26 - 11.43)	61	18
UMBRIA	7.27 (3.91 - 12.59)	65	19
VENETO	2.28 (1.08 - 4.71)	101	30
SARDEGNA	19 (18.8 - 20.0)	59	18
SICILIA	Nessuna informazione	200	60

4.2 Analisi diagnostiche delle cisti campionate

Contestualmente si procederà alla raccolta e invio dei campioni di cisti al CeNRE per l'analisi della specie e del genotipo, così come suggerito dai pareri all'EFSA delle Agenzie europee per la sicurezza alimentare e sanità veterinaria (<https://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/en-36>). Le cisti verranno inviate alle accettazioni delle sedi degli IZZSS locali al fine di poter seguire l'iter diagnostico presso i servizi di diagnostica e/o i CeNRE, secondo quanto descritto nel progetto di ricerca, ovvero l'estrazione del DNA dal materiale parassitario (liquido cistico e membrana proligerica), la determinazione della concentrazione di purezza mediante l'analisi spettrofotometrica, l'amplificazione e sequenziamento di un frammento dei geni mitocondriali *cox1* e *nad5*, ed infine l'analisi



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA SARDEGNA “G. PEGREFFI”

filogenetica delle sequenze per la determinazione delle specie di provenienza degli isolati provenienti dalle diverse regioni.

5. IMPLEMENTAZIONE E VALIDAZIONE DEL FLUSSO DATI

In Italia il monitoraggio sulla presenza di echinococcosi cistica negli allevamenti ovini avviene per sorveglianza passiva in sede di ispezione sanitaria post mortem nei macelli. Da alcuni anni è stato attivato un sistema di trasmissione e raccolta dei dati di prevalenza della malattia che si avvale del sistema SINZOO. Sebbene il flusso dei dati sia funzionante, la qualità del dato stesso è scarsa tanto da non consentire gli studi epidemiologici necessari ad una reale stima della prevalenza sul territorio nazionale. Il presente progetto si prefigge anche l'obiettivo di strutturare un adeguato flusso di dati relativi alle ispezioni post-mortem in fase di macellazione e quelli relativi alle analisi condotte sui campioni di cisti in laboratorio. I dati, raccolti negli stabilimenti di macellazione verranno inviati con cadenza trimestrale dalle aziende sanitarie del SSN agli OEVR delle UU.OO. I campioni invece, per evitare problemi legati alla loro deperibilità, verranno inviati dagli stabilimenti di macellazione ai laboratori di diagnostica degli IZS territoriali con la richiesta specifica della genotipizzazione e l'indicazione di un invio dell'esito anche al Centro di Referenza Nazionale. Sia per la raccolta dei dati che per il flusso relativo ai campioni e ai relativi risultati delle attività di laboratorio, sono state prodotte una specifica modulistica sia per il flusso dati che per il campioni (Allegato 1 e 2). Inoltre, al fine di assicurare innanzitutto una riservatezza e il rispetto della privacy, per il caricamento di tali dati in formato elettronico è stato costituito un apposito database password protected su interfaccia Microsoft Access, nel quale, utilizzando come chiave di unione tra le informazioni il codice identificativo del campione, verranno raccolte le variabili come elencato nella Tabella 3. Le UU.OO. 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 raccoglieranno i dati e li invieranno trimestralmente alla U.O.1, che provvederà a valutarne la completezza e ad inviarli alla U.O.2 la quale provvederà all'implementazione del database precedentemente costituito. La U.O.1 insieme alla U.O.2 verificherà il funzionamento del flusso campioni utilizzando come riferimento i dati raccolti dalle UU.OO. valutando l'effettiva progressione degli invii in parallelo di dati e campioni con il flusso di riferimento del piano di sorveglianza della scrapie.



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA SARDEGNA "G. PEGREFFI"

Tabella 3. Elenco delle variabili, loro abbreviazione e fonte dei dati che costituiranno il database finale, implementato sulla base del flusso dati dalle varie U.O.

Variabile	Abbreviazione	Fonte
Numero identificativo campione	N_campione	Allegato 1 (sede di macellazione)
Codice aziendale/allevamento	Cod_az	Allegato 1 (sede di macellazione)
Proprietario dell'allevamento	Proprietario	Allegato 1 (sede di macellazione)
Codice fiscale	CF	BDN
Regione	Regione	Allegato 1 (sede di macellazione)
Provincia	Prov	Allegato 1 (sede di macellazione)
ASL/AUSL/ASP	Asl	Allegato 1 (sede di macellazione)
Data di macellazione	Data_mac	Allegato 1 (sede di macellazione)
Codice dello stabilimento/macello	Cod_mac	Allegato 1 (sede di macellazione)
Media delle macellazioni ovine mensili nel macello di riferimento	Macellazioni_mac	BDN
Media delle macellazioni ovine mensili nella provincia di riferimento	Macellazioni_prov	BDN
Esito ispezione (EC Positivo/Negativo)	Esito	Allegato 1 (sede di macellazione)
Localizzazione cisti (Fegato/Polmone/altro)	Localizzazione	Allegato 2 (laboratorio)
Richiedente	Richiedente	Allegato 2 (laboratorio)
Utente	Utente	Allegato 2 (laboratorio)
Data diagnostica	Data_lab	Allegato 2 (laboratorio)



6. PIANO DI CONTROLLO DEL CAMPIONAMENTO

Trattandosi di un PdC nuovo, mai applicato e quindi di per se soggetto a possibili bias non prevedibili in fase di programmazione, risulta necessario prevedere un PCC, sulla base del quale modificare eventualmente e in corso d'opera le numerosità campionarie per singola Regione, in termini di aumento o decremento in funzione del piano TSE sul quale si appoggia il suddetto Piano EC. Una volta valutato il funzionamento del flusso dati, controllata la loro completezza e precisione, risolti eventuali errori di registrazione, una prima fase di analisi (*ad interim*) verrà condotta al raggiungimento del 30% del campione indicato per ogni regione. I dati verranno analizzati prima per singola regione, confrontando la prevalenza rilevata con quella stimata precedentemente. Inoltre questo numero verrà valutato anche con il numero di ipsezioni effettuate per TSE nello stesso periodo, e in riferimento a quelle dell'anno precedente. Lo scopo di tali valutazioni sarà quello di comprendere innanzitutto se il numero di controlli stabilito è congruo con le possibilità del SV, ma anche di stabilire se questo è sufficiente per osservare una prevalenza di malattia uguale o maggiore a quella stimata nei precedenti lavori. Tale confronto ci fornirà gli strumenti per decidere se proseguire con il PdC previsto, o se modificare il numero di campioni (in aumento o in decremento rispetto al numero originario). In particolare il controllo e l'eventuale modifica del PdC saranno basati sui seguenti punti:

- Il numero di campioni rimarrà invariato per regione se il numero, considerato il numero di controlli TSE effettuati al raggiungimento del 30% di campioni EC risulterà all'incirca pari al 30% (min 20, max 50) del totale di campioni TSE effettuati l'anno precedente. Questo al fine di evitare una concentrazione di campioni tutti nello stesso periodo dell'anno, che potrebbe quindi generare un bias di selezione.
- Il numero di campioni resterà invariato se la prevalenza osservata nel campione iniziale (30% del totale), sarà quanto più simile alla prevalenza EC stimata.
- Nel caso in cui la prevalenza osservata sia molto più bassa, si valuterà la possibilità di incrementare il numero campionario, se molto più alta allora si procederà ad una modifica del campione con un incremento campionario. Le successive modifiche del numero campionario saranno quindi basate non più sulla prevalenza stimata, ma sulla popolazione ovina di riferimento.



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA SARDEGNA “G. PEGREFFI”

Una volta definito il campione definitivo e raccolti tutti i dati provenienti dalle diverse regioni, si procederà con la creazione del database definitivo. Quindi si procederà con una valutazione della completezza e congruità dei dati raccolti dalle varie U.O. e l'eventuale presenza e quantità di dati mancanti, che, se ritenuto opportuno verranno imputati con tecnica di multiple imputation (da valutare al momento della analisi). Verranno condotte delle analisi statistiche di tipo descrittivo, finalizzate a valutare la distribuzione di ogni variabile raccolta al baseline, con indici di media e deviazione standard, mediana e interquartili, frequenze e percentuali. Eventuali associazioni di tipo statistico tra le variabili di tipo continuo e l'outcome di riferimento (prevalenza della malattia) verranno valutate con appositi test statistici (es. Spearman's correlation test), al fine di evitare problematiche legate alla multicollinearità delle variabili, che potrebbero inficiare il modello finale. Le variabili da includere nel modello finale saranno selezionate con l'ausilio del pacchetto BayesVarSel disponibile nel software R (R-software® v.3.4.1). Il modello bayesiano proposto da Messam et al., e utilizzato nel precedente lavoro [Loi et al., 2019] per la stima della prevalenza, verrà riapplicato per singola regione, utilizzando come distribuzione a priori non più la distribuzione della malattia in Sardegna, ma quella osservata per singola regione nella presente raccolta dati. I risultati che ci si prefigge di ottenere, ovvero la probabilità di distribuzione a posteriori su base regionale, saranno rappresentati in termini di media e intervalli di credibilità bayesiani, e illustrati per mezzo di mappe tematiche.



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA SARDEGNA "G. PEGREFFI"

Allegato 2. Modulo Accompagnamento Campioni Di Cisti/Liquido Cistico



MODULO ACCOMPAGNAMENTO CAMPIONI DI CISTI/LIQUIDO CISTICO
QUESITO DIAGNOSTICO: RC SA 01/19 – GENOTIPIZZAZIONE ECHINOCOCCUS

N **Identificativo campioni:** _____

Specie: **OVINI** *Codice aziendale:* **IT** _____

Proprietario _____

Regione _____ *Provincia* _____

Data _____ *ATS/ASL* _____

Codice dello stabilimento di macellazione: _____

Localizzazione cisti

Fegato *Polmone* *altro* _____

Richiedente Dr. _____ *Utente:* _____

Note: _____

IZS SEDE ACCETTANTE e data

Timbro e Firma

Istituto Zooprofilattico della Sardegna. Centro di Referenza Nazionale per l'echinococcosi cistica.
Via Vienna, 2. 07100 Sassari. Tel.0792892325. email: centre@izs-sardegna.it

