

**OSSERVATORIO EPIDEMIOLOGICO**

**STIMA DELLA COPERTURA ANTICORPALE NEI CONFRONTI DELLA BLUETONGUE DELLA POPOLAZIONE OVINA E CAPRINA NEI TERRITORI COLPITI DALL'EPIDEMIA 2013/2014 nel Lazio**

**1. PREMESSA**

La Bluetongue, malattia virale che colpisce i ruminanti, è presente in Italia dal 2000 e si manifesta determinando focolai clinici negli ovini e sieroconversioni negli animali sentinella.

La Regione Lazio è stata interessata negli anni 2002-2006 dal sierotipo BTV-2 e dal sierotipo BTV-16. Dopo diversi anni di assenza di circolazione virale nel periodo 2007-2012, se si esclude la sporadica notifica di sieroconversioni nei confronti del BTV-16 di origine vaccinale, nel mese di agosto 2013 il sierotipo BTV-1 di origine nordafricana ha fatto registrare una vasta circolazione virale nel Lazio.

Tale circolazione nel 2013 ha interessato prevalentemente le zone relative alle ASL di Viterbo, Roma C e Roma D, mentre nel 2014 la diffusione è stata più intensa ed ha interessato soprattutto la provincia di Frosinone, il territorio della ASL Roma G e di Rieti per poi muoversi verso Viterbo e coinvolgere i territori toscani. Alla data attuale, sono registrati 352 focolai in 151 Comuni Laziali. Quasi tutti i Comuni della Regione Lazio sono interessati da aziende sede di focolaio o da restrizioni dovuti all'estensione di 4 km dei buffer dalle aziende infette.

Tabella 1: focolai di BT dal 15/4/2014 al 13/11/2014

ASL	SPECIE	Totale
FR	BOVINI	6
	CAPRINI	1
	OVINI	82
LT	BOVINI	9
	BUFALI	2
	OVINI	5
VT	BOVINI	10
	OVINI	63
	ND	1
RI	BOVINI	10
	CAPRINI	1
	OVINI	80
	OVINI/CAPRINI	1
RM 102	OVINI	1
RM 104	BOVINI	1
RM 105	BOVINI	2
	OVINI	4
RM 106	BOVINI	1
	OVINI	6
RM 107	BOVINI	7
	CAPRINI	5
	OVINI	47
RM 108	BOVINI	3
	OVINI	4
TOTALE		352

Figura 1: mappa della circolazione virale di BT dal 15/4/2014 al 13/11/2014

### Comuni interessati da Blue Tongue in Lazio e Toscana al 11/11/2014



Tabella 1. Epidemia 2014 Lazio. Distribuzione dei focolai in base ad Asl e Tipologia al 13/11/2014

ASL	Clinico	Sieroconversione	ND	Sieroconv/clinico	Totale complessivo
FR	80	8	1		89
LT	5	11			16
RI	68	19	4	1	92
RM B	1				1
RM D		1			1
RM E	4	2			6
RM F	6	1			7
RM G	42	13		4	59
RM H	4	3			7
VT	61	12	1		74
<b>Totale complessivo</b>	<b>271</b>	<b>70</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>352</b>

**Tabella 2. Epidemia 2014 Lazio. Distribuzione dei focolai in base ad Asl e Specie al 13/11/2014**

asl	BOVINI	BUFALI	CAPRINI	OVINI	OVINI/CAPRINI	ND	Totale
FR	6		1	82			89
LT	9	2		5			16
RI	10		1	80	1		92
RM B				1			1
RM D	1						1
RM E	2			4			6
RM F	1			6			7
RM G	7		5	47			59
RM H	3			4			7
VT	10			63		1	74
<b>Totale complessivo</b>	<b>49</b>	<b>2</b>	<b>7</b>	<b>292</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>352</b>

**Tabella 2. Epidemia 2014 Lazio. Numero di casi e morti notificati su SIMAN, indici di morbilità, mortalità e letalità calcolati al 13/11/2014. Il calcolo è stato eseguito per le aziende con capi ovini e/o caprini sede di focolaio clinico (aperto o estinto) confermato, con dati inseriti su SIMAN.**

ASL	SPECIE	TIPO FOCOLAIO	NUM CASI SIMAN	NUM MORTI SIMAN	NUM Anli PRESENTI	MORBILITA	MORTALITA	LETALITA
A.S.L. FROSINONE	OVINO	Focolaio Clinico	494	344	7661	<b>6,45</b>	<b>4,49</b>	<b>69,64</b>
A.S.L. LATINA			60	32	1514	<b>3,96</b>	<b>2,11</b>	<b>53,33</b>
A.S.L. RIETI			363	177	9916	<b>3,66</b>	<b>1,78</b>	<b>48,76</b>
A.S.L. 5 ROMA			26	16	2860	<b>0,91</b>	<b>0,56</b>	<b>61,54</b>
A.S.L. 6 ROMA			14	2	937	<b>1,49</b>	<b>0,21</b>	<b>14,29</b>
A.S.L. 7 ROMA/G			445	262	10755	<b>4,14</b>	<b>2,44</b>	<b>58,88</b>
A.S.L. 8 ROMA/H			90	88	853	<b>10,55</b>	<b>10,32</b>	<b>97,78</b>
A.S.L. VITERBO			594	273	11864	<b>5,01</b>	<b>2,30</b>	<b>45,96</b>
<b>Totale</b>			<b>2086</b>	<b>1194</b>	<b>46360</b>	<b>4,50</b>	<b>2,58</b>	<b>57,24</b>

E' attualmente in fase di discussione, a livello Regionale e interregionale, la futura strategia di immunizzazione della popolazione di ruminanti sensibili alla BT durante la stagione invernale 2014-2015, al fine di abbattere la suscettibilità della popolazione alla infezione, contrastare la circolazione virale e mitigare l'impatto delle forme cliniche e delle mortalità negli ovini e caprini.

E' attualmente in commercio un vaccino inattivato nei confronti del sierotipo 1 della Bluetongue. Gli allevatori dopo un iniziale rifiuto nell'utilizzo del presidio immunizzante, proposto ai fini della prevenzione primaria dell'infezione nel 2013-2014 dall'IZSLT e dall'autorità sanitaria regionale, sembrano oggi più propensi a voler effettuare la vaccinazione. I costi della vaccinazione sono considerevoli, pertanto devono essere elaborate delle strategie per rendere l'eventuale campagna di vaccinazione efficiente e mirata alla popolazione priva di protezione naturale.

Tale approccio si ritiene importante ai fini della programmazione della campagna vaccinale, stante la previsione di disponibilità delle prime circa 210.000 dosi di vaccino entro aprile 2015, ampiamente

insufficiente a coprire il fabbisogno per la totalità della popolazione di bovini, bufalini, ovini e caprini censita nel Lazio (circa 1.200.000 capi).

Si consideri che per l'instaurazione di immunità vaccinale duratura (12 mesi secondo il produttore del vaccino disponibile) sono necessarie 2 dosi di vaccino. A ciò si aggiunga la necessità di procedere al richiamo annuale dei capi vaccinati nel corso del 2014 e garantire la vaccinazione dei capi oggetto di movimentazione tra aree (regioni) a diverso status rispetto alle restrizioni per BT, evitando negative e gravi ripercussioni commerciali per il settore.

In base a tali premesse e limitazioni, si impone una strategia vaccinale fondata su una attenta valutazione delle priorità.

Al fine di poter garantire una efficiente campagna vaccinale, si propone quindi il seguente ordine di priorità per la messa in disponibilità e somministrazione del vaccino BT inattivato sierotipo 1:

- 1) vaccinazione di capi soggetti a movimentazione da vita
- 2) richiamo annuale capi vaccinati 2014
- 3) vaccinazione di capi ovini non coperti da immunità naturale
- 4) vaccinazione delle rimonte nel 2015 in comuni posti in zona epidemica 2014

Tale proposta tiene conto del fatto che l'infezione dei ruminanti con il virus selvaggio comporta la produzione di anticorpi neutralizzanti efficaci a proteggere gli animali da una nuova infezione, se determinata dallo stesso sierotipo.

L'epidemia BT osservata nel 2013-2014 nel Lazio può aver determinato una diffusa esposizione dei ruminanti all'infezione naturale, potenzialmente in grado di generare una ampia immunizzazione naturale nella popolazione suscettibile.

Pertanto, la Regione Lazio ha richiesto allo scrivente Osservatorio di programmare una survey per verificare il livello di immunità naturale nella popolazione ovina e caprina regionale, conferito dalla circolazione virale della Bluetongue nel 2014.

Ciò al fine di verificare la sussistenza di una copertura anticorpale in una proporzione della popolazione suscettibile ritenuta adeguata a determinare una protezione dall'infezione e/o dalle forme cliniche.

## 2. SURVEY

### Obiettivi

La survey proposta si prefigge l'obiettivo di consentire una gestione efficiente delle prime 210.000 dosi di vaccino BTV1 che si renderanno disponibili, verificando la possibilità di posticipare la vaccinazione nelle aree interessate dall'epidemia 2014 nelle quali la popolazione di ruminanti risulti coperta da livelli anticorpali derivanti da infezione naturale in una proporzione almeno pari al 60%. Se tale condizione venisse accertata, la popolazione di tale area potrà essere considerata a minor rischio di infezione a carattere epidemico all'inizio della stagione a rischio 2015 e le prime dosi disponibili verranno prioritariamente utilizzate nelle aziende che ne abbiano fatta richiesta localizzate in aree con popolazione animale non sufficientemente coperta, e per le movimentazioni di capi da vita.

In ogni caso, anche nelle aree a minor rischio la vaccinazione potrà essere eseguita nelle aziende che ne facciano richiesta e sulle rimonte, appena si renderanno disponibili ulteriori quantitativi di vaccino nel corso del 2015, eventualmente in formulazione a base di più sierotipi, laddove la situazione epidemiologica ne consigliasse l'utilizzo (es. BTV1+BTV4).

### Criteri adottati per il disegno dello studio

- 1) *Tipo di studio.* Studio trasversale di sieroprevalenza
- 2) *Selezione area epidemica target.* Insieme dei comuni interessati dal almeno 2 focolai di BT nel corso dell'epidemia 2014;
- 3) *Definizione delle sub-aree epidemiche target.* Raggruppamento dei comuni di cui al punto 2) in funzione della ASL di riferimento;
- 4) *Definizione dei denominatori per comune/sub-aree.* Nei comuni di cui al punto 2) calcolo dei capi ovini e caprini censiti in BDN e calcolo del numero complessivo di capi ed aziende presenti in ciascuna sub-area;
- 5) *Disegno di campionamento.*
  - a. per ciascuna sub area viene calcolato il campione di capi atteso per stimare la prevalenza di capi con anticorpi nei confronti di BTV1 da sottoporre a test ELISA su sangue ponendo i seguenti assunti:
    - i. prevalenza attesa = 60%
    - ii. errore ammesso = 5%
    - iii. livello di confidenza (certezza della stima) = 95%
  - b. stratificazione del campione calcolato per ciascuna sub-area proporzionalmente al numero di capi censiti in ogni comune;
  - c. numero di capi da testare per azienda = 4. Numero necessario a svelare almeno 1 positivo se la sieroprevalenza reale intra-aziendale è uguale o superiore a 60%, con un livello di confidenza pari a 95%. *A prescindere dal significato predittivo di questa numerosità campionaria, il numero di campioni attesi per ogni azienda ha lo scopo di fissare un criterio omogeneo per una gestione semplice e chiara delle operazioni di campo da parte delle ASL.*
  - d. mediante calcolo del rapporto tra campione atteso complessivo e numero di capi da testare in ogni azienda viene calcolato il numero di aziende sede di prelievo per ogni comune;
  - e. La selezione delle aziende da sottoporre a prelievo in ciascun comune viene effettuata dall'OES in base a selezione causale semplice;
  - f. dalla selezione finale vengono escluse le aziende sede di focolaio nel 2014 e sottoposte a vaccinazione nel 2014 (almeno 1 intervento vaccinale).

In una seconda fase, si propone la possibilità di effettuare il campionamento dello stesso numero di campioni su base comunale effettuato in aziende sede di focolaio 2014, al fine di poter operare un confronto tra le sieroprevalenze osservate nei 2 gruppi e conferire maggior robustezza e livello informativo alla survey.

### Nota metodologica

Il numero di campioni per azienda ed il numero di aziende da sottoporre a controllo di cui ai punti c. e d. è stato aggiustato, in particolare per alcune sub-aree (ASL LT, ASL RM E-F-H), in base alla effettiva disponibilità di allevamenti non sottoposti a vaccinazione nel 2014 e non risultati focolaio nello stesso anno, in particolare laddove il numero di comuni ed aziende risultasse ridotto.

Si ritiene che la eventuale riduzione della numerosità campionaria derivante da tale aggiustamento non sia tale da determinare distorsioni sostanziali delle stime di sieroprevalenza risultanti dalla survey.

Al fine, tuttavia, di mantenere una numerosità campionaria adeguata agli scopi, in queste 2 sub aree il campione di capi da sottoporre a prelievo per ciascuna azienda è stato **umentato a 6 unità**.



## Popolazione target

Nella tabella 4 si riporta la descrizione della popolazione target, del campione teorico calcolato e del campione finale aggiustato per ogni sub-area target, scaturiti dall'applicazione delle metodologie dettagliate sopra.

Il numero complessivo di comuni interessati da almeno 1 focolaio al 13/11/2014 risulta pari a 171. Sono stati considerati per la survey i 77 comuni con almeno 2 focolai registrati nel corso del 2014, complessivamente sede di 285 focolai su 352 registrati al 13/11/2014 nel Lazio.

## Procedura operativa

- 1) Gli elenchi delle aziende da sottoporre ad ingresso per il prelievo di sangue viene predisposto ed inviato dall'OES dell'IZSLT a ciascuna ASL (allegato1 "aziende campioneBT" .xls).
- 2) Entro 15 giorni dalla ricezione degli elenchi la ASL competente provvede ad effettuare gli ingressi nelle aziende segnalate ed ad effettuare i prelievi di sangue assegnati.
- 3) Laddove una o più aziende nell'elenco assegnato non dovessero risultare disponibili (temporaneamente o definitivamente vuote) dovrà comunque essere garantito il raggiungimento del campione di aziende e campioni atteso per ogni comune, riportato in TAB 5. La Asl potrà provvedere a sostituire l'azienda non disponibile con altra azienda nelle vicinanze purchè non sede di focolaio o non vaccinata per BT nel 2014.
- 4) **Nelle aziende ad indirizzo produttivo "carne" dovranno essere sottoposti a prelievo i capi riproduttori.**
- 5) I campioni di sangue dovranno essere pre-accettati su SIEV indicando il **motivo 5** della scheda SBT05 **"sorveglianza a campione nelle aree dove è presente la malattia o confinanti"**
- 6) I campioni dovranno essere inviati all'IZSLT sede centrale di Roma mediante le usuali procedure.

**Tabella 4.** Popolazione target, campione teorico calcolato e campione finale aggiustato per ogni sub-area basata sui comuni con almeno 2 focolai nel 2014.

Sub-area	Provincia	N° focolai 2014	N° comuni target	numero aziende target	numero capi ovini e caprini censiti	campione capi teorico atteso	N° aziende atteso	campione capi/azienda	campione aggiustato*
ASL Frosinone	FR	72	18	594	29.331	369	92	4	368
ASL Latina	LT	8	5	160	15.881	351	53	6	318
ASL Rieti	RI	74	21	643	31.138	369	93	4	372
ASL VT	VT	77	15	642	133.039	369	92	4	368
ASL RMG	RM	43	15	459	34.622	369	86	4	344
<i>subtotale RM E-F-H</i>	RM	11	3	279	31.732	369	42	6	252
<b>TOTALE</b>		<b>285</b>	<b>77</b>	<b>2.777</b>	<b>275.743</b>	<b>2.196</b>	<b>458</b>		<b>2.022</b>

**Tabella 5. Lista dei comuni interessati dalla Survey con indicazione del numero minimo di aziende da sottoporre a controllo e numero di campioni attesi (per singola azienda e complessivo)**

ASL	Comune	numero minimo aziende e campioni attesi		
		Numero aziende da campionare	N° campioni per azienda	N° campioni totali per comune
FR	Acuto	3	4	12
FR	Alatri	10	4	40
FR	Anagni	15	4	60
FR	Boville Ernica	1	4	4
FR	Ceprano	5	4	20
FR	Ferentino	8	4	32
FR	Fiuggi	4	4	16
FR	Frosinone	4	4	16
FR	Fumone	1	4	4
FR	Paliano	12	4	48
FR	Piglio	5	4	20
FR	Pofi	1	4	4
FR	Pontecorvo	4	4	16
FR	Ripi	1	4	4
FR	San Giovanni Incarico	2	4	8
FR	Torre Cajetani	3	4	12
FR	Veroli	12	4	48
FR	Villa Santa Lucia	1	4	4
LT	Cisterna di Latina	7	6	42
LT	Priverno	10	6	60
LT	Roccagorga	6	6	36
LT	Sezze	12	6	72
LT	Aprilia	18	6	108
RI	Cantalupo in Sabina	1	4	4
RI	Casperia	3	4	12
RI	Collevecchio	6	4	24
RI	Contigliano	6	4	24
RI	Cottanello	3	4	12
RI	Fara in Sabina	4	4	16
RI	Fiamignano	5	4	20
RI	Greccio	1	4	4
RI	Leonessa	12	4	48
RI	Magliano Sabina	12	4	48
RI	Montasola	2	4	8
RI	Montebuono	6	4	24
RI	Pescorocchiano	7	4	28
RI	Poggio Bustone	4	4	16
RI	Poggio Catino	3	4	12
RI	Poggio Mirteto	4	4	16
RI	Rocca Sinibalda	4	4	16
RI	Tarano	3	4	12
RI	Toffia	2	4	8
RI	Torri in Sabina	3	4	12
RI	Vacone	2	4	8



ASL	Comune	numero minimo aziende e campioni attesi		
		Numero aziende da campionare	N° campioni per azienda	N° campioni totali per comune
VT	Acquapendente	4	4	16
VT	Bagnoregio	5	4	20
VT	Civita Castellana	5	4	20
VT	Civitella d'Agliano	1	4	4
VT	Gallese	1	4	4
VT	Ischia di Castro	11	4	44
VT	Lubriano	1	4	4
VT	Nepi	4	4	16
VT	Onano	4	4	16
VT	Soriano nel Cimino	2	4	8
VT	Tarquinia	10	4	40
VT	Tuscania	13	4	52
VT	Vetralla	4	4	16
VT	Viterbo	25	4	100
VT	Vitorchiano	2	4	8
RMG	Artena	19	4	76
RMG	Gavignano	9	4	36
RMG	Genazzano	6	4	24
RMG	Guidonia Montecelio	8	4	32
RMG	Mentana	5	4	20
RMG	Monterotondo	3	4	12
RMG	Palestrina	5	4	20
RMG	Palombara Sabina	5	4	20
RMG	San Gregorio da Sassola	2	4	8
RMG	Sant'Angelo Romano	1	4	4
RMG	Segni	11	4	44
RMG	Subiaco	2	4	8
RMG	Tivoli	4	4	16
RMG	Valmontone	5	4	20
RMG	Vivaro Romano	1	4	4
RME	Roma	37	6	252
RMF	Nazzano	4	6	24
RMH	Lariano	1	6	6