

Potenziale protocollo base veterinario in chiave *One Health* per la sorveglianza epidemiologica COVID-19

Maurizio Ferri, Alessandro Foddai

Sommario

1. Introduzione	4
2. Aspetti generali da considerare nel settare e valutare i sistemi di sorveglianza .	7
2.1 Sezione A. Domanda/e di ricerca e scopo/i del sistema: perchè la sorveglianza?.....	9
2.2 Sezione B. Impatto del piano di campionamento sulla rappresentatività dell' informazione ottenuta attraverso il sistema di sorveglianza	10
2.3 Sezione C. Impatto del/i test usato/i sulla precisione del sistema di sorveglianza	13
2.4 Sezione D. Parallelismi tra test applicato al singolo individuo e sistema di sorveglianza applicato a un'intera popolazione intesa come "entità unica"	14
2.5 Sezione E. Contesto COVID-19: considerazioni generali sui diversi approcci di sorveglianza in base a scopi, piani di campionamento e test usati.	17
2.6 Sezione F. Potenziale approccio e adattamento della sorveglianza COVID-19 per il contesto epidemiologico attuale	20
3. Vantaggi e limiti del protocollo base veterinario.....	25
4. Conclusioni	26

Potenziale protocollo base veterinario in chiave *One Health* per la sorveglianza epidemiologica COVID-19

Maurizio Ferri * e Alessandro Foddai *

* Coordinatore Scientifico Società Italiana Medicina Veterinaria Preventiva (SIMeVeP)

** National Food Institute, Technical University of Denmark (DTU-Food), Division for Global Surveillance (Lyngby, Denmark)

Abstract

La storia e l'esperienza e hanno dimostrato come l'epidemiologia e la sorveglianza delle malattie infettive si declinano con lo stesso linguaggio sia che si tratti di infezioni umane o animali. Nell'attuale contesto di pandemia COVID-19, la medicina veterinaria considerata l'esperienza maturata nel corso delle passate epidemie infettive animali (es. influenza aviaria, blue tongue, pesti suine, afta) con lo sviluppo ed applicazione sul campo di una varietà di metodi di sorveglianza epidemiologica attiva e passiva e analisi dei rischi delle popolazioni, potrebbe fornire un prezioso contributo di conoscenza alla sanità pubblica per il controllo delle infezioni nelle popolazioni umane. Lo scopo di questo articolo è di dare un contributo dal punto di vista veterinario, in una prospettiva "One Health" (Una Salute) per la gestione della pandemia COVID-19, partendo dai parametri, vantaggi e svantaggi che vengono considerati quando un piano di sorveglianza veterinario viene settato o valutato nella sua sostenibilità ed efficacia. Viene pertanto descritto per COVID-19 un protocollo veterinario di base per la sorveglianza casuale attiva in tempo reale, con l'obiettivo di valutare i focolai di in modo coerente e obiettivo ed avere un impatto positivo sulla gestione delle epidemie a lungo termine. Il lavoro è suddiviso in due parti: la prima si sviluppa in quattro sezioni contenenti spiegazioni generali che riteniamo essere propedeutiche per la comprensione delle restanti due sezioni relative alle potenziali applicazioni del protocollo veterinario per il COVID-19. Tuttavia premettiamo che l'intento di questo articolo non è quello di bypassare l'autorità di sanità pubblica umana, alla quale va tutto il nostro riconoscimento e plauso per gli sforzi sostenuti nella difficile gestione di una emergenza sanitaria, piuttosto quello di fornire un punto di vista addizionale per la lotta alla pandemia presente o a quelle (eventualmente) future.

1. Introduzione

La storia e l'esperienza hanno dimostrato come l'epidemiologia e la sorveglianza delle malattie infettive si declinano con lo stesso linguaggio sia che si tratti di infezioni umane o animali. La medicina veterinaria nel corso delle passate epidemie infettive animali (es. influenza aviaria, blue tongue, pesti suine, afta) ha sviluppato ed applicato sul campo una varietà di metodi di sorveglianza con gli obiettivi di comprendere la diffusione dei virus e proporre al livello decisionale misure di controllo efficaci, sostenibili e tempestive per l'eradicazione e/o per la riduzione delle infezioni. Queste attività ben armonizzate a livello comunitario e internazionale si inseriscono all'interno della strategia di prevenzione e controllo delle malattie animali trasmissibili, comprese le zoonosi, che sono un compito fondamentale dei servizi veterinari di ogni paese membro dell'OIE. Tuttavia sullo sfondo di un terreno comune alle due medicine, umana e veterinaria, vorremmo far notare alcune differenze nelle attività di sorveglianza epidemiologica.

Partiamo dal dato che in medicina umana il trattamento del singolo paziente è centrale nel sistema sanitario, mentre le misure incentrate a livello di popolazione sono più rare e spesso meno necessarie. Al contrario in medicina veterinaria, a causa degli effetti devastanti che i focolai epidemici riversano sulla sanità e sul benessere animale, sulla salute umana (per infezioni zoonosiche), sull'economia e sul commercio, l'interesse è rivolto all'intera popolazione animale con standard e meccanismi di protezione sanitaria uniformi ed efficaci. Difatti in campo veterinario, soprattutto per gli animali da reddito, i piani di sorveglianza e di eradicazione vengono spesso settati a livello di popolazione (es. regionale o nazionale), per la quale rappresentano rispettivamente "il test" ed "il trattamento".

Quindi, anche se l'obiettivo comune ad entrambi i sistemi di sorveglianza (umana e veterinaria) è la riduzione della circolazione virale e della trasmissione dell'infezione, permangono differenze di approccio. In medicina veterinaria, se c'è un focolaio epidemico, per comprendere la natura e la dinamica dell'infezione possono venir svolte sia indagini di tracciamento (es. per capire l'origine degli animali infetti), sia indagini a "random" (es. test sierologici) su campioni (n. di animali) rappresentativi della popolazione, impiegando specifiche modalità di campionamento e includendo anche soggetti asintomatici ai fini della valutazione dell'esposizione a livello di popolazione. L'approccio di sorveglianza scelto, dipende quindi dalla fase dell'epidemia e dall'uso finale delle informazioni raccolte. In genere, a inizio epidemia, l'obiettivo principale è il tracciamento di tutti i casi, per tentare una eradicazione precoce. In una seconda fase invece, se l'agente patogeno si è già diffuso nella popolazione locale in un'ampia percentuale (prevalenza) di soggetti, i target principali

sono due: separare le zone infette da quelle indenni ("free", libere) così da limitare i movimenti tra le due popolazioni e stimare la prevalenza (reale o vera) dell'infezione nelle prime.

Quindi l'obiettivo iniziale è di contenere l'epidemia, ridurre al minimo le perdite e velocizzare al massimo l'eradicazione. Qualora questo non fosse sufficiente, la stima ripetuta della prevalenza all'interno delle zone riconosciute come infette, consente di monitorare la situazione epidemiologica nel tempo e di suggerire, prevedere o modellare ciò che accadrà in futuro. Le informazioni che se ne ricavano e i dati raccolti sistematicamente dalla popolazione, tramite un sistema di sorveglianza rappresentativo e standardizzato, possono essere usate per ottenere stime affidabili (in tempo reale), del "numero di riproduzione di base" R_0 . In genere, in epidemiologia, tale parametro rappresenta il numero medio di casi secondari infettati da un soggetto infetto (durante il suo periodo infettante), all'interno di una popolazione suscettibile (Heffernan et al., 2005). A seconda del livello di prevalenza, l'obiettivo a lungo termine può essere l'eradicazione della malattia con l'eliminazione dell'agente infettivo da una data popolazione animale. Qualora l'eradicazione non fosse immediata, si può perseguire la gestione di uno *status* endemico, ma con perdite minime e possibilmente con una protezione immunitaria della popolazione tramite eventuali piani vaccinali.

Una volta ottenuta l'eradicazione, un Paese può venir classificato indenne dalla malattia e la sorveglianza post-eradicazione punta principalmente al ritrovamento (es. tramite sistemi di allarme rapido) di eventuali nuove introduzioni dell'agente patogeno e alla dimostrazione di indennità, così da poter ottenere la liberalizzazione del commercio degli animali e/o dei prodotti da essi derivati. Tale liberalizzazione è spesso regolata a livello nazionale, continentale o globale da specifici regolamenti e linee guida che definiscono i parametri da considerare per poter ambire allo status di indennità. Per esempio, all'interno dell'Unione Europea, un Paese Membro può richiedere lo status ufficiale di indennità da tubercolosi bovina (Official Tuberculosis Free status) se "...la percentuale di allevamenti bovini di cui è confermato che sono stati infetti da tubercolosi non ha superato lo 0,1 % annuo del totale degli allevamenti negli ultimi sei anni e almeno il 99,9 % degli allevamenti è stato dichiarato ufficialmente indenne da tubercolosi ogni anno, negli ultimi sei anni; il calcolo di quest'ultima percentuale deve essere effettuato il 31 dicembre di ogni anno..." (Direttiva del Consiglio 64/432/CEE, Allegato A, Art. 4). I paesi riconosciuti come OTF possono movimentare i propri capi all'interno della comunità europea senza dover applicare il test prima della movimentazione (Decisione della Commissione 2000/504/CE, punto 2). Inoltre,

le informazioni sullo stato sanitario della popolazione animale presente in altri Paesi, possono essere integrate all'interno di modelli matematici che vengono usati per valutare quantitativamente il rischio di introdurre agenti patogeni in una nazione (per esempio tramite importazioni di capi vivi).

Il controllo di COVID-19 almeno nella fase iniziale della pandemia si è caratterizzato per strategie di sorveglianza non uniformi tra i paesi membri, motivate dalla diversa situazione epidemiologica e specificità dei sistemi sanitari. Ciò ha condotto ad interventi non farmaceutici, comprensivi di misure di contenimento, quarantena e distanziamento sociale, diversi tra i paesi membri con evidenti ripercussioni sulle libertà personali e diritti alla libera circolazione dei cittadini comunitari. A pesare sulla risposta non coordinata e frammentaria ci sono la diversa situazione epidemiologica, le differenze nella raccolta, elaborazione e comunicazione dei dati, ma soprattutto la specificità dei sistemi sanitari nazionali su cui l'UE non può fare molto, e per il cui ordinamento lascia agli Stati membri piena libertà nella organizzazione e gestione della sanità pubblica. Per ovviare a questi limiti intrinseci dell'Unione, la Commissione e il Consiglio dell'UE, su richiesta dei membri del Consiglio europeo, sviluppano il *Joint European Roadmap*, una nuova tabella di marcia europea per l'eliminazione graduale delle misure di contenimento e per la definizione di una strategia di "uscita" il più possibile coordinata con gli Stati membri. Inoltre, la Commissione europea con l'obiettivo di raggiungere un accordo su un approccio coerente per l'utilizzo dei test diagnostici per la diagnosi di infezione COVID-19, fornisce raccomandazioni su criteri di utilizzo dei test, inclusi quelli rapidi. Parallelamente, con i documenti tecnici dell'ECDC sull'utilizzo dei test per casi sintomatici e asintomatici, in rapporto ai diversi contesti epidemiologici esistenti negli Stati membri, e sulle opzioni per l'uso di test rapidi antigenici per COVID-19, si pongono le basi tecniche per lo sviluppo di standard il più possibile uniformi e per un approccio coordinato riguardo alle misure di restrizione della libera circolazione delle persone.

Lo scopo di questo articolo è quello di dare un contributo dal punto di vista veterinario, in una prospettiva "One Health" (Una Salute) alla gestione della pandemia COVID-19, partendo dai parametri, vantaggi e svantaggi che vengono considerati quando un piano di sorveglianza veterinario viene settato o valutato nella sua sostenibilità ed efficacia. Abbiamo suddiviso il lavoro in due parti: la prima si sviluppa in quattro sezioni (A, B, C, D) contenenti spiegazioni generali che riteniamo essere propedeutiche per la comprensione delle restanti sezioni E-F relative alle potenziali applicazioni del protocollo veterinario per il COVID-19. Se a volte si dà per scontata l'omogenea interpretazione dei concetti di sorveglianza tra settori

di medicina umana e veterinaria, l'esperienza di un anno di pandemia ha fatto emergere una disomogeneità di tali concetti. Da qui la decisione di usare le sezioni A, B, C, D. Tuttavia premettiamo che l'intento di questo articolo non è quello di bypassare l'autorità della sanità pubblica umana, alla quale va tutto il nostro riconoscimento e plauso per gli sforzi sostenuti nella difficile gestione di una emergenza sanitaria così improvvisa e con così pochi precedenti. Semplicemente proviamo a fornire un punto di vista aggiuntivo che pensiamo possa essere preso in considerazione nella lotta alla pandemia presente o a quelle (eventualmente) future (es. per pianificare futuri *preparedness plans*)

2. Aspetti generali da considerare nel settare e valutare i sistemi di sorveglianza

La sorveglianza epidemiologica può essere definita come la raccolta, combinazione e analisi di informazioni riguardanti l'assenza, o la presenza (ed eventuale diffusione) di un agente patogeno in una popolazione, così da poter settare le necessarie azioni di prevenzione o controllo. Perciò un sistema di sorveglianza si sviluppa mediante una serie di enti e figure professionali, ma anche di azioni (campionamento, "testing", analisi statistica e comunicazione) attraverso cui le informazioni epidemiologiche passano dal campo (persone, animali, produttori alimentari, ospedali, medici, laboratori di analisi ecc.) al decisore, così da poter appunto informare scelte mirate alla prevenzione/monitoraggio/controllo della malattia stessa. Tali passaggi vengono sintetizzati a grandi linee nella Figura 1.

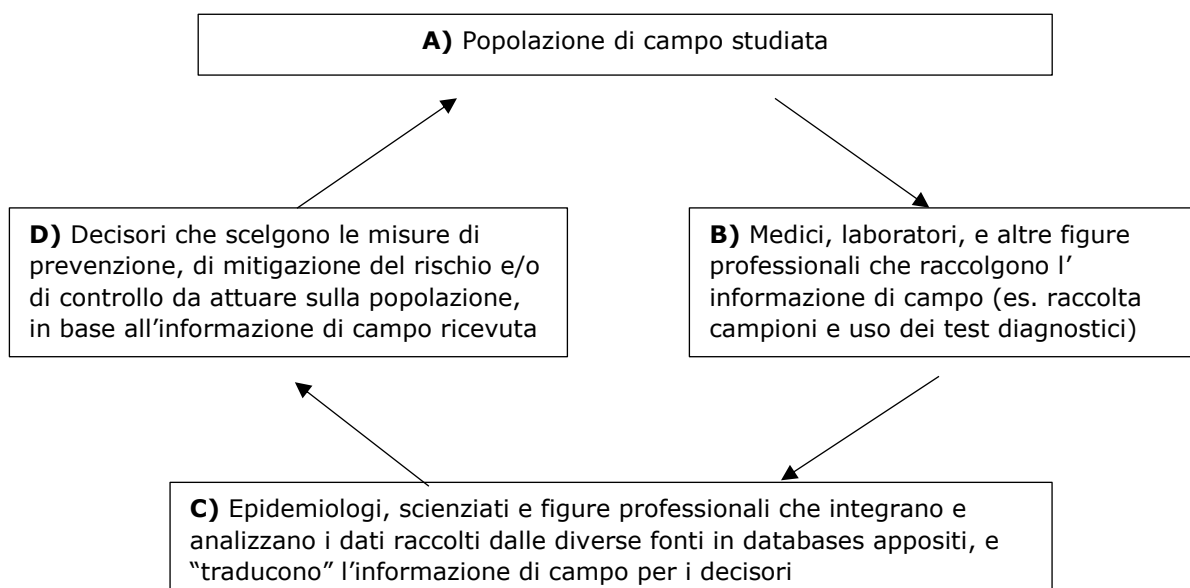


Figura 1. Rappresentazione schematica (semplificata) di un sistema di sorveglianza. Le frecce rappresentano il flusso di informazioni dal campo (A) ai decisori (D), tramite figure professionali ed enti che si occupano della raccolta dei campioni, dei test ecc. (B) e tramite figure professionali ed enti che si occupano delle analisi statistiche dei dati ottenuti e quindi della "traduzione" dell'informazione di campo per i decisori.

Dalla semplice rappresentazione grafica mostrata in Figura 1, è chiaro che le attività svolte all'interno del sistema di sorveglianza consentono il passaggio di informazioni dal campo (**A**) al decisore (**D**). Ovviamente più il flusso di informazioni avviene in maniera veloce e standardizzata, più le misure prese dal decisore sono tempestive e adeguate per mantenere o migliorare lo status epidemiologico - sanitario della popolazione (*fit for purpose*). Per esempio, una sorveglianza frequente e standardizzata, può consentire allarmi rapidi riguardo eventuali introduzioni di nuovi agenti patogeni nella popolazione di interesse, e quindi, consente di applicare le misure di controllo entro tempi minimi intercorrenti tra l'arrivo dell'agente patogeno e il suo ritrovamento (*timeliness*).

Perciò un sistema di sorveglianza può essere considerato alla stregua di una macchina fotografica che se usata in maniera ripetuta nel tempo, può fornire "fotografie" istantanee della realtà epidemiologica. Ovviamente, più il sistema di sorveglianza è standardizzato e accurato, più l'istantanea epidemiologica da esso fornita si avvicina alla realtà (alla situazione di campo), e più le eventuali azioni di mitigazione del rischio e/o di controllo, sono efficienti ed adeguate.

Allo stesso tempo, come spesso avviene, gli "strumenti di misurazione" più precisi e sofisticati possono avere costi maggiori. Nei sistemi di sorveglianza, i costi possono aumentare con: la precisione del/dei test usato/i, la frequenza di campionamento, il numero di campioni testati, gli enti e il personale coinvolto ecc. Quindi, affinché un sistema di sorveglianza sia applicabile, esso deve avere un adeguato supporto economico (in termini di costi di campionamento, personale, capacità di "testing" ecc.) e deve anche essere sostenibile nel lungo periodo. I benefici di un sistema altamente accurato e informativo vanno perciò bilanciati con la sua sostenibilità. Di conseguenza, l'ottimizzazione tecnica ed economica del sistema di sorveglianza dipende dalla combinazione di diversi fattori come:

- a) Lo scopo e i benefici per cui viene usato, e quindi, le "domande di ricerca" a cui deve rispondere tramite l'informazione epidemiologica raccolta
- b) Il piano di campionamento applicato
- c) I test diagnostici usati e la loro performance.

Una volta definiti lo scopo e le domande di ricerca (fattore "a"), si può calcolare il numero di campioni necessari e si può decidere come ottenerli ("b"), per esempio se si vuole dare valenza statistica e rappresentatività all'informazione ottenuta, in modo che questa possa esser generalizzata a tutta la popolazione di interesse (testata e non). Allo stesso tempo, il piano di campionamento si dovrebbe basare anche sull'informazione epidemiologica disponibile sulla malattia (es. disponibile tramite studi scientifici precedenti) e sulla performance dei test applicati (vedi sotto). Infatti, il numero di soggetti campionati, il metodo di scelta degli stessi e la performance del/i test, influenzeranno la precisione dell'informazione fornita al decisore attraverso il sistema di sorveglianza.

2.1 Sezione A. Domanda/e di ricerca e scopo/i del sistema: perchè la sorveglianza?

Quando un sistema di sorveglianza viene settato (o valutato) bisogna sempre tener conto del suo scopo finale e quindi delle domande di ricerca alle quali tenta di dare delle risposte, tramite l'informazione epidemiologica ottenuta. Per esempio, se pensiamo che una popolazione sia "libera" o "free" (indenne) da malattia, perché non abbiamo riscontrato alcun caso di positività, allora potremmo farci le seguenti domande:

1. La malattia è "realmente" assente nella popolazione?
2. Se è assente, con che "confidenza" (probabilità "I") posso dimostrare indennità?
3. Se invece fosse presente, con che "confidenza" (probabilità "S") posso trovarla tramite il sistema di sorveglianza?

Un sistema di sorveglianza che abbia lo scopo di rispondere alle tre domande, prima che la malattia si manifesti clinicamente (quindi prima che venga trovata tramite la sorveglianza sindromica/clinica), si può basare su una ricerca pro-attiva del patogeno eventualmente presente nella popolazione. Per esempio tramite campionamento casuale, oppure tramite campionamento basato su particolari fattori di rischio conosciuti. Dopodiché, qualora nessuno dei soggetti testati risultasse positivo, potremmo concludere con confidenza (probabilità) in indennità "I" (es. 95%), che al momento del campionamento, il patogeno era assente in quella popolazione, o che comunque se era presente, la percentuale reale degli infetti era al di sotto di una prevalenza limite prestabilita (*design prevalence*); perché se quest'ultima fosse stata raggiunta nella realtà, il campionamento avrebbe dovuto trovarla con probabilità "S" (es. sensibilità a livello di popolazione $S=95\%$) grazie al/ai test usato/i. Perciò il campionamento attivo, settato per rispondere alle domande 1-2-3, costituirebbe un sistema per il ritrovamento dell'agente patogeno nella popolazione

studiata, e sarebbe allo stesso tempo, un sistema atto a dimostrarne indennità qualora non vi siano campioni positivi. Tale sistema può essere usato come *screening* iniziale delle popolazioni residenti in diverse aree geografiche e può essere ripetuto nelle aree indenni, al fine di confermare indennità in maniera continua.

Invece, qualora fossimo al corrente del fatto che un agente patogeno è presente in una popolazione, per esempio considerando i casi riscontrati tramite sorveglianza clinica e/o tramite il sistema descritto sopra, allora il sistema di sorveglianza dovrebbe essere adattato per un altro scopo principale: il monitoraggio della malattia nella popolazione. In tal caso, le domande alle quali il sistema tenterebbe di rispondere sarebbero soprattutto due:

- a) In che percentuale (prevalenza "P") è presente la malattia nella popolazione infetta?
- b) La prevalenza è aumentata, immutata o ridotta rispetto al campionamento precedente?

Un sistema di sorveglianza settato per rispondere alle domande "a-b" ci consentirebbe di avere un adeguato monitoraggio dell'evoluzione temporale della malattia nella popolazione infetta e di valutare sia l'efficacia che la potenziale durata delle misure di controllo indirizzate alla sua eradicazione o gestione nel lungo periodo (es. minimizzando gli effetti in attesa dello sviluppo di vaccini efficaci).

2.2 Sezione B. Impatto del piano di campionamento sulla rappresentatività dell'informazione ottenuta attraverso il sistema di sorveglianza

Come spiegato nella sezione iniziale, il sistema di sorveglianza deve fornire informazioni epidemiologiche che vengono sintetizzate e messe a disposizione del decisore, in una sorta di "fotografia istantanea della realtà". Perciò la precisione di tale rappresentazione e il margine d'errore attorno ad essa, vanno entrambi comunicati a chi deve prendere le decisioni. In questa sezione prendiamo in considerazione l'impatto dei parametri di campionamento (strategia e numero) sui risultati della sorveglianza.

Da un punto di vista generale, nel campo veterinario, possiamo considerare due tipi principali di sorveglianza: "passiva" e "attiva" (Hoinville et al., 2013). In genere, per sorveglianza passiva si intende quel tipo di sorveglianza basata su una raccolta dei dati che non viene iniziata dall'investigatore (es. da colui che analizza e interpreta i dati di sorveglianza a livello di popolazione, **Figura 1, passaggio C**) e che non viene settata tramite piano di campionamento predefinito, ma che inizia dalla volontarietà di alcuni

soggetti che osservano particolari situazioni (es. sintomi) e decidono di cercare supporto diagnostico e/o di fornire informazioni all'investigatore (es. allevatori e/o veterinari che decidono di spontanea volontà di sottoporre ad accertamento diagnostico alcuni animali/campioni)¹. Quindi l'informazione rilevata tramite tale tipo di sorveglianza, può esser utile soprattutto a livello individuale e/o riguardo particolari categorie di soggetti. Ma nella maggior parte dei casi, non è rappresentativa dello stato sanitario "medio" all'interno della popolazione di cui i soggetti testati fanno parte, perché spesso questi rappresentano una bassa percentuale della popolazione stessa e/o perché il tipo di campionamento è sbilanciato verso particolari condizioni, caratteristiche ecc. Ad esempio, l'informazione ottenuta tramite investigazioni di "casi" sospetti di malattie animali esotiche notificabili per legge, potrebbe esser ottenuta principalmente attraverso allevatori che sono più aggiornati sulla legislazione in vigore, mentre altri potrebbero esser fortemente sottorappresentati all'interno del sistema.

Con sorveglianza attiva invece, si intende un tipo di sorveglianza basato su scopi e metodi di campionamento predefiniti, con l'intento di andare alla ricerca (appunto) attiva dell'agente patogeno e della malattia. A sua volta la sorveglianza attiva può esser basata su un campionamento casuale dei soggetti da testare, oppure su un campionamento mirato, per esempio basato sull'occorrenza differenziata di fattori di rischio all'interno di una popolazione. In genere il campionamento casuale ha come scopo principale quello di dare una rappresentatività statistica (generale) dello stato sanitario medio dei soggetti di una popolazione, tramite l'informazione ottenuta attraverso quelli testati. Invece il campionamento strettamente basato su fattori di rischio particolari, viene usato principalmente per aumentare le probabilità di ritrovamento dell'agente patogeno all'interno di ampie popolazioni, dove questo può esser presente con prevalenze molto basse e in maniera molto disomogenea tra i diversi soggetti. Quest'ultimo tipo di campionamento è particolarmente conveniente all'interno di sistemi di sorveglianza che abbiano come scopo principale l'allarme rapido, in popolazioni dove l'agente patogeno può esser arrivato di recente e dove la sua ricerca basata sul campionamento casuale richiederebbe risorse assai maggiori (es. alto numero di soggetti da campionare). Allo stesso tempo, il campionamento basato su particolari fattori di rischio (*risk-based surveillance*), sarebbe anch'esso (come nell'esempio descritto sopra per la sorveglianza passiva), un tipo di campionamento non rappresentativo dello stato sanitario medio all'interno della popolazione studiata. Infatti, con

¹ NB: I sistemi di sorveglianza "passiva" includono anche sistemi di notifica obbligatoria di casi sospetti di malattie animali esotiche notificabili per legge (Hoinville et al., 2013). Quindi è diventato difficile classificare l'ampia varietà di attività di sorveglianza, semplicemente come "attiva" o "passiva", soprattutto tra diversi settori. Tuttavia, in questo articolo preferiamo semplificare i due tipi di raccolta dati come appunto "attivo" e "passivo".

il campionamento strettamente basato su alcuni fattori di rischio, si andrebbero a studiare solo particolari tipi di soggetti. Ad esempio, se in base a studi precedenti pensiamo che una malattia abbia maggiori probabilità di esser presente all' interno di un particolare categoria di soggetti piuttosto che in altre, e se indirizziamo il campionamento principalmente all' interno di tale categoria, allora per ogni soggetto campionato, avremmo una probabilità maggiore di ritrovamento dell' agente patogeno, rispetto al campionamento casuale. Questo è dovuto al fatto che con la sorveglianza basata sul rischio, daremmo priorità di campionamento ai soggetti nei quali abbiamo maggiori probabilità di trovare l' agente patogeno. Per tale motivo questo tipo di campionamento, viene spesso usato per massimizzare l' efficienza dei sistemi di allarme rapido (minimizzando il numero di campioni da testare per trovare almeno un positivo e quindi aumentare la sensibilità "S"). Tuttavia, in caso di ritrovamento di uno o più' soggetti infetti, sarebbe poi difficile generalizzare la prevalenza stimata all' interno della categoria a più alto rischio, a tutta la popolazione, poichè nella categoria a più' alto rischio la prevalenza può' esser più alta che in altre categorie.

Quindi come è facile capire, tutti i tipi di campionamento e sorveglianza menzionati hanno vantaggi e svantaggi. In linea generale, la sorveglianza passiva è conveniente per il ritrovamento di agenti patogeni non conosciuti in precedenza (nuovi) e per i quali (almeno all'inizio) non si hanno a disposizione test diagnostici appositi in quantità sufficiente. Questo tipo di sorveglianza può essere molto utile anche per malattie altamente diffusive e nelle quali la maggior parte dei soggetti infetti manifesta sintomi evidenti (se non addirittura patognomonic), come per esempio nel caso dell'afta epizootica nei suini e bovini. In tale situazione, anche senza applicare una sorveglianza attiva, in paesi dove la malattia è stata eradicata da tempo, potremmo assumere che essa sia assente nella popolazione d'interesse. Infatti, qualora fosse introdotta in popolazioni pienamente suscettibili (prive di copertura immunitaria), in poco tempo si diffonderebbe velocemente e la maggior parte dei soggetti infetti manifesterebbe sintomi tipici, facilmente rilevabili dagli addetti ai lavori. In contrasto, la sorveglianza passiva (es. clinica) può attivare un allarme ritardato per le malattie in cui la maggior parte degli infetti è asintomatica e/o dove i sintomi possono esser confusi con quelli causati da altri patogeni e condizioni patologiche. In tali situazioni l'allarme potrebbe esser attivato quando una alta percentuale della popolazione è già stata infettata e quando l'agente patogeno raggiunge in maniera rilevante lo strato di popolazione ad esso più sensibile da un punto di vista clinico.

Il vantaggio principale della sorveglianza attiva risiede nel fatto che il design può essere predefinito, appositamente per lo scopo richiesto (rappresentatività della prevalenza e/o allarme rapido e/o confidenza in indennità) e solo per l'agente patogeno d'interesse. Nella sorveglianza attiva pianificata, le limitazioni dovute al tipo di campionamento e/o ai test usati sono tenute sotto controllo in maniera preventiva, il che consente una maggiore comparabilità delle stime ottenute tra diversi momenti di campionamento e tra diverse popolazioni. Lo svantaggio principale è che può richiedere risorse importanti. I costi possono essere molto maggiori rispetto a quelli di una sorveglianza passiva o sindromica. Per la dimostrazione di indennità, i costi di sorveglianza possono risultare esorbitanti (alto numero di campioni) qualora si combinasse il campionamento casuale con l'uso di test poco affidabili e/o qualora la prevalenza limite (per avere un allarme) fosse settata a livelli molto bassi (es. a 1 soggetto infetto su una popolazione di diverse migliaia di soggetti). Tali costi possono essere ridotti usando un campionamento attivo (non casuale) basato sui fattori di rischio, oppure usando un campionamento attivo casuale ma combinato con una prevalenza limite relativamente superiore. Nell'ultimo caso lo svantaggio sarebbe che accettiamo di avere un eventuale allarme dopo che l'agente patogeno si è diffuso nella popolazione per un certo periodo (es. quando vi siano almeno 100 soggetti infetti su una popolazione di diverse migliaia).

Quindi, la scelta del tipo di sorveglianza, del tipo di campionamento, della sua frequenza e del test da usare dipendono da: agente patogeno ricercato, fase epidemiologica considerata e bilanciamento tra costi e benefici (sostenibilità) del sistema.

2.3 Sezione C. Impatto del/i test usato/i sulla precisione del sistema di sorveglianza

La performance di un test diagnostico, si può valutare in base a due caratteristiche fondamentali: la sensibilità e la specificità. La prima rappresenta la probabilità che un soggetto realmente positivo nella realtà (es. *carrier* reale del virus ricercato) venga correttamente classificato come positivo dal test, mentre la seconda rappresenta la probabilità che un soggetto realmente non infetto venga correttamente classificato come negativo dal test. In genere, quando si aumenta la sensibilità di un test se ne riduce la specificità. Perciò è difficile (se non impossibile) avere test perfetti con sensibilità e specificità entrambe uguali al 100%.

Quindi se un test ha una sensibilità = 95% e una specificità = 98%, vorrebbe dire che se l'individuo campionato è infetto nella realtà, il test ha il 95% di probabilità di classificarlo

correttamente come positivo e il rimanente 5% di probabilità di classificarlo erroneamente come negativo (falso negativo). Per contro, qualora l'individuo campionato non fosse infetto nella realtà, allora il test avrebbe il 98% di probabilità di classificarlo correttamente come negativo e il rimanente 2% di probabilità di classificarlo erroneamente come positivo (falso positivo).

Perciò anche il test diagnostico usato per la ricerca di un virus, all'interno del sistema di sorveglianza (**Figura 1**, nel passaggio **B**) ci dà una foto istantanea più o meno precisa del potenziale stato sanitario dell'individuo al momento del suo campionamento. Di conseguenza, quando l'informazione di campo (**Figura 1, A**) viene tradotta (**Figura 1, C**) per i decisori (**Figura 1, D**) che devono applicare le misure di controllo sulla popolazione (**Figura 1, D-A**), oltre a tener conto dei margini d'errore causati dal fatto di non testare tutta la popolazione presente in un'area, si deve anche tener conto della percentuale d'errore del test quando questo viene applicato su ogni individuo campionato. Infatti per trovare un soggetto infetto, si devono effettuare almeno due passaggi consecutivi: la selezione di tale soggetto per il test e il risultato positivo di quest'ultimo. I piani di campionamento settati per la sorveglianza attiva dovrebbero esser corretti per i margini di errore di entrambi i passaggi.

2.4 Sezione D. Parallelismi tra test applicato al singolo individuo e sistema di sorveglianza applicato a un'intera popolazione intesa come "entità unica"

I test diagnostici così come i sistemi di sorveglianza sono degli "strumenti" d'investigazione che cercano particolari target (es. agente patogeno o parti di esso, risposta anticorpale etc.) nei campioni selezionati, per poterci informare su particolari "stati di transizione" della malattia investigata (es. infezione, replicazione del patogeno, fase di risposta immunitaria, status immunitario post-infettivo ecc.). In base alla fase rilevata si può decidere l'eventuale trattamento (se necessario).

Quindi a seconda del test usato all'interno del sistema di sorveglianza, possiamo indagare l'eventuale presenza/assenza o l'eventuale diffusione dell'agente patogeno nella popolazione infetta (es. prevalenza di soggetti *carrier* di virus), e/o l'eventuale stato immunitario della popolazione stessa (es. prevalenza di soggetti positivi agli anticorpi e potenzialmente immuni).

Quindi come menzionato nella sezione iniziale, il sistema di sorveglianza può venir considerato alla stregua di un test che viene applicato a una popolazione intesa come unica

unità di sorveglianza. Infatti, così come per il singolo test diagnostico applicato al singolo individuo, anche il sistema di sorveglianza può avere una certa sensibilità e specificità, in base ai valori soglia assunti per trovare la malattia con campionamento apposito e classificare la popolazione studiata come infetta o indenne. La differenza principale con i test diagnostici individuali è che per questi ultimi, si usano valori soglia di positività a livello di campione (es. di sangue ecc.), mentre a livello di popolazione si possono usare valori soglia di prevalenza limite (*design prevalence*) alla quale ci attendiamo che il sistema di sorveglianza rilevi l'infezione in almeno un soggetto infetto con sensibilità di sistema "S", qualora la prevalenza limite fosse raggiunta nella realtà (Martin et al., 2007a-b).

A grandi linee, per le malattie virali, sia a livello di singolo individuo che a livello di popolazione, possiamo dire che vi sono quattro stati di transizione (o fasi) generali d'infezione, che vengono considerati sia quando si validano i test diagnostici sia quando si settano e valutano i sistemi di sorveglianza. Queste sono: I) la fase di esposizione al virus, II) il periodo di incubazione III) la fase infettante/replicativa e IV) la fase immunitaria.

In linea generale, possiamo dire che a livello individuale la fase di esposizione è quella di contatto con soggetti, materiali, aria, prodotti infetti ecc. (in base al virus studiato); mentre la fase di incubazione è il lasso di tempo intercorrente tra l'esposizione all'agente patogeno e l'apparizione dei sintomi. Quindi, in genere, i sintomi di malattia si manifestano tra la fase II e IV, prima dell'eventuale guarigione e prima del raggiungimento dell'eventuale immunità (più o meno forte e durevole) alle successive infezioni.

A livello di popolazione invece, la fase di esposizione al nuovo patogeno verrebbe rappresentata dall'arrivo del/i così detto/i "paziente/i zero". In tal caso, il periodo di incubazione sarebbe rappresentato dalla circolazione della malattia a un livello molto basso (a una bassa prevalenza) quando ancora non vengono rilevati sintomi, e/o quando questi possono esser confusi con sintomi dovuti ad altre condizioni patologiche o patogeni, e/o quando un apposito sistema di sorveglianza non sia ancora in grado di rilevarne la presenza con l'attesa sensibilità "S" perché la prevalenza limite (considerata per calcolare il numero di campioni da testare a priori tramite sorveglianza attiva) non è ancora stata raggiunta. In tali fasi, l'agente patogeno può iniziare a diffondersi nella popolazione in maniera "silente", senza che alcuna misura di controllo venga applicata. Con il passare del tempo, può iniziare una fase di diffusione esponenziale dell'agente patogeno all'interno della popolazione, la quale è ancora (in maggioranza) suscettibile. In tale fase aumentano le probabilità di notare eventuali casi sintomatici e/o di ritrovare la malattia tramite campionamento attivo con

probabilità \geq "S" (quando l'ipotetica prevalenza limite, assunta a priori, viene raggiunta se non superata).

Quindi sia nel caso del singolo individuo infetto che nel caso di una popolazione infetta, le probabilità di avere risultato/i positivo/i (tramite test o tramite sistema di sorveglianza) aumentano con la replicazione del virus all'interno dell'unità di sorveglianza considerata (soggetto infetto e popolazione infetta). Maggiore è la diffusione del virus in una popolazione, maggiori sono il numero e la prevalenza dei soggetti infetti, maggiori diventano le chances di fare diagnosi in almeno uno di essi, così da classificare la popolazione come infetta.

Qualora non venisse applicata alcuna misura di contenzione e controllo, la diffusione naturale della malattia potrebbe fare il suo decorso, oltre che nei singoli soggetti infetti anche a livello di popolazione, causando prima un picco di soggetti infetti e/o sintomatici e successivamente un picco immunitario (immunità di gregge raggiunta in maniera naturale). In tal caso, la diffusione della malattia potrebbe rallentare e minimizzarsi naturalmente, ma dopo che si sono già avute ingenti perdite (es. dopo il picco di sintomatici).

In genere, è molto difficile avere a disposizione test e sistemi di sorveglianza che consentano di identificare le fasi precoci di infezione (I and II) a livello di popolazione. E comunque, quando questi sono a disposizione, possono essere assai "costosi" in termini economici, di personale e di altre risorse. Ciò significa che il trascorrere di un certo lasso di tempo (*timeliness*) è spesso una condizione inevitabile, prima che il ritrovamento dell'agente patogeno avvenga in maniera precisa e efficiente, sia a livello individuale che a livello collettivo. Tale finestra temporale può anche esser definita come un periodo ad alto rischio, durante il quale i primi soggetti infetti sintomatici e/o asintomatici iniziano a diffondere (inconsiamente) l'agente patogeno all'interno della popolazione e/o ad altre popolazioni.

Per tali motivi, i sistemi di sorveglianza che hanno come bersaglio le fasi I e II a livello di popolazione, sono anche quelli in grado di dare allarmi rapidi su eventuali nuove incursioni dell'agente patogeno, prima che si diffonda in maniera importante e quando la prevalenza di soggetti infetti è ancora bassa. In contrasto, i sistemi che bersagliano la fase avanzata di replicazione esponenziale o quella immunitaria (III-IV), sono quelli che informano sul livello di diffusione del virus in un momento più tardivo. L'applicazione di piani vaccinali collettivi prima che la popolazione venga infettata, o comunque entro periodi brevi dall'esposizione di popolazioni precedentemente indenni e completamente suscettibili, può consentire il

raggiungimento dell'immunità di gregge in maniera artificiale, prima che il picco di soggetti infetti e/o sintomatici venga raggiunto; evitando la maggior parte delle perdite sia in termini di salute che in termini economici. **La combinazione di sistemi di allarme rapido e di piani vaccinali tempestivi ed efficaci, sono tra le migliori armi a disposizione per minimizzare i danni causati nell'immediato da nuovi agenti patogeni e/o per puntare alla loro eradicazione in maniera sostenibile, se non nel breve, almeno nel lungo periodo.**

2.5 Sezione E. Contesto COVID-19: considerazioni generali sui diversi approcci di sorveglianza in base a scopi, piani di campionamento e test usati.

Dall'inizio della pandemia di COVID-19 causata da SARS-COV-2, tutti noi ci siamo spesso posti le seguenti domande:

- I. Il virus è assente nel mio comune/provincia/regione/nazione?
- II. Quali sono le aree indenni, e dove si potrebbero rilasciare le misure di controllo con maggiore confidenza e sicurezza?
- III. Se il virus dovesse esser presente, riusciremmo ad accorgercene prima che la malattia si manifesti con un "ondata" di casi sintomatici, quando gli ospedali potrebbero andare in sovraccarico nel giro di poco tempo?
- IV. Se è presente, qual è la percentuale (prevalenza) di persone infette?
- V. Nelle zone infette, per quanto tempo debbono esser impiegate le restrizioni?

Come si può notare, queste domande sono molto simili a quelle menzionate nelle sezioni precedenti, ma sono adattate al contesto COVID-19. Per tale motivo, nel Marzo 2020, partendo dall'esperienza acquisita dalla medicina veterinaria nella sorveglianza attiva e passiva e nell'analisi dei rischi delle malattie infettive degli animali, è stato proposto un protocollo veterinario di base per la potenziale impostazione della sorveglianza attiva casuale (a random) nella gestione di SARS-COV-2 a livello di popolazione umana (Foddai et al., 2020a-b). Un contributo che, in linea con un approccio *One Health*, potrebbe aggiungersi alle conoscenze e alle strategie di sanità pubblica per il controllo delle epidemie infettive umane.

Come la maggior parte di noi ricorderanno, i primi casi di COVID-19 riscontrati sia in Cina che nelle altre nazioni, furono diagnosticati partendo dai casi sintomatici e quindi tramite quella che nel settore veterinario verrebbe definita come sorveglianza passiva clinica. Una volta riscontrati i primi casi, si è attivato un sistema di tracciamento dei contatti a rischio, il

quale potrebbe esser definito come un tipo di sorveglianza attiva non basata sul campionamento casuale (*non-randomizzato*), ma piuttosto basata su fattori di rischio particolari come: il contatto con soggetti infetti, viaggi in zone infette ecc.

Con una prevalenza molto bassa e nella fase iniziale dei focolai (es. in una città, provincia o regione), la sorveglianza basata sul ritrovamento dei casi sintomatici e sul tracciamento dei loro contatti, poteva essere l'opzione principale, soprattutto considerando le poche risorse disponibili (disponibilità di test molecolari, laboratori, personale ecc.). Inoltre, la necessità di trovare i nuovi casi all'interno di ampie popolazioni recentemente infettate, richiedeva di destinare le scarse risorse a disposizione verso le sottopopolazioni a più alta probabilità di ospitare l'agente patogeno, e nelle quali si avevano maggiori probabilità di trovarlo, così da poter tentare misure draconiane indirizzate all'eradicazione (o comunque controllo) nel breve periodo. Nelle fasi iniziali della pandemia, questa strategia di sorveglianza costituiva l'approccio che poteva bilanciare: le conoscenze epidemiologiche del momento, i costi del sistema, le sue logistiche, e i suoi benefici immediati. Lo scopo principale era di tentare l'eradicazione immediata, prima che la malattia si stabilisse in diversi territori.

Purtroppo però, la sorveglianza clinica e il tracciamento ad essa connesso, hanno consentito di limitare la diffusione del virus solo in poche realtà (es. Nuova Zelanda e Sud Corea), ed entro pochi mesi si è raggiunto lo status di pandemia a livello globale. Ciò è stato anche causato dal fatto che, nel caso di COVID-19, molte delle persone infette rimangono asintomatiche ma possono comunque diffondere il virus. Quindi, nella maggior parte delle nazioni, si sono avuti allarmi tardivi riguardo l'incursione del nuovo agente patogeno, quando un'alta prevalenza di persone infette era ormai raggiunta e dopo che molte persone suscettibili e fragili hanno iniziato a manifestare sintomi evidenti, spesso con esito infausto (alta mortalità).

Il numero di casi ritrovati nelle aree colpite, tramite sistemi di sorveglianza e test differenti, vengono usati per stimare: l'incidenza della malattia nelle popolazioni infette, la mortalità, il rapporto tra positivi e testati, e l' R_0 . Tali fattori vengono usati per monitorare l'andamento delle curve epidemiche, per paragonare la diffusione della malattia tra aree infette e per adattare le misure di mitigazione del rischio e di controllo.

I sistemi attuali si basano (principalmente) sulla sorveglianza clinica e sul tracciamento. Tuttavia, pensiamo che i variegati scopi attuali di sorveglianza, possano anche esser adattati alle diverse situazioni epidemiologiche, considerando che le risorse disponibili (es. test e personale tecnico) sono ora molto maggiori rispetto a quelle di un anno fa. I ricoveri e

i decessi sono un tipo di misurazione abbastanza oggettivo. Tuttavia, questi danno informazioni sul livello di infezione della popolazione più suscettibile e fragile nelle settimane precedenti (estesa *timeliness*), e non forniscono informazioni sufficientemente tempestive sulla diffusione della malattia tramite asintomatici, nè sullo stato "medio" sanitario all'interno della popolazione cui appartengono.

Inoltre, non è ancora possibile rintracciare tutti i singoli cluster e tutti i potenziali infetti. **Quindi, la sorveglianza clinica e i test diagnostici applicati ai pazienti sintomatici, sono (ovviamente) ancora utili per decidere l'eventuale ricovero e/o l'isolamento dei soggetti interessati (e dei loro recenti contatti). Ma per il livello decisionale attuale, l'efficacia della sorveglianza clinica è in parte ridotta**, vista l'ampia diffusione del virus e considerando che i casi identificati tramite sintomi e tracciamento, non sono rappresentativi del totale degli infetti nella popolazione e non sono facilmente paragonabili tra diverse fasi dell'epidemia e tra diverse popolazioni. Per esempio, è difficile capire se le variazioni giornaliere osservate nel rapporto positivi/testati e nel totale di casi diagnosticati, siano dovute a una reale variazione dello status epidemiologico nella popolazione, e/o se siano invece dovute al tipo di campionamento basato su sorveglianza clinica e tracciamento. Questi ultimi sono altamente variabili e dipendono fortemente dalla volontarietà dei soggetti sintomatici e paucisintomatici di cercare supporto medico, e dalle informazioni e risorse disponibili per il tracciamento dei loro contatti.

Nella situazione attuale, lockdown duri applicati su intere regioni o nazioni, sono poco sostenibili e poco tollerati, a causa delle ingenti perdite economiche e dei disagi relazionati. Le misure draconiane o parziali richiedono applicazioni mirate per tempi minimi, così da consentire una gestione armonizzata, almeno finché non si raggiunge l'immunità di gregge in maniera artificiale tramite vaccinazioni.

In queste circostanze, lo scopo della sorveglianza non è più solo quello di dare un allarme rapido all'interno delle zone recentemente infettate, così da poter applicare lockdown in poche zone rosse, ma è anche quello di poter comparare il livello di diffusione della malattia nel tempo e in zone multiple, e di poter differenziare con buona precisione tra popolazioni infette e indenni (anche tra Paesi), così da poter rispondere in maniera adeguata e tempestiva alle domande I-V.

In sostanza, in questo momento, due outputs principali della sorveglianza potrebbero supportare in maniera ottimale le azioni di mitigazione del rischio e il controllo diversificato delle infezioni a livello di popolazione: la prevalenza (vera) corretta per il margine d'errore

del *testing* degli individui infetti (sintomatici e non) nelle zone infette, e se non vengono trovati casi, la fiducia nel livello di 'indennità' (libertà). Nelle zone infette si potrebbe stimare il totale degli infetti, includendo gli asintomatici, così da generare parametri precisi per "prevedere" l'andamento della curva epidemica. Se un'area mostra un aumento crescente di individui infetti oggi (non ancora visibile tramite sorveglianza clinica), è probabile che in essa ci sarà un maggiore richiesta di cure mediche e di risorse nelle settimane a seguire. È quindi essenziale una combinazione razionale di un approccio basato sul singolo paziente, combinato con misure volte alla salute della popolazione come "corpo unico".

2.6 Sezione F. Potenziale approccio e adattamento della sorveglianza COVID-19 per il contesto epidemiologico attuale

Un approccio veterinario potrebbe esser utile nelle esigenze contingenti (*fit-for-purpose*) attuali e consentirebbe di: - ottenere "istantanee" rappresentative della presenza della malattia nella popolazione, compresi i nuovi infetti non ancora sintomatici e non ancora tracciati; - facilitare le strategie di controllo *evidence-based*; - generare parametri per "prevedere" l'andamento della curva epidemica; - facilitare la selezione delle migliori opzioni di controllo; - prevenire pressioni sul sistema sanitario; - ottimizzare la stima della letalità tramite il totale degli infetti (sintomatici e non);- minimizzare i tempi dell'applicazione delle misure di controllo per lo stretto necessario; ed informare la popolazione sulla loro giustificazione e durata, tramite la comunicazione di due parametri comprensibili ai più: la prevalenza vera e la confidenza in indennità.

Nelle aree infette, un campionamento casuale ripetuto abbastanza frequentemente (es. su base settimanale o bisettimanale) consentirebbe di monitorare l'efficacia delle misure di controllo in maniera rappresentativa, minimizzando il numero di campioni da testare e nella durata minima necessaria prima di (ri)raggiungere il livello di indennità. In tal caso, "la riapertura" verrebbe autorizzata quando si ha un livello statisticamente accettabile di "confidenza in indennità" o comunque quando un (ri)innalzamento della curva epidemica possa esser considerato poco probabile nel breve periodo, vista la bassa prevalenza stimata.

La prevalenza vera degli infetti si riferirebbe direttamente al momento del campionamento. Quindi la "*timeliness*" dei sistemi potrebbe esser ottimizzata. La stima della prevalenza vera in tempo reale, consentirebbe anche di migliorare le stime dell' R_0 , che sarebbe calcolato avendo un'approssimazione adeguata del totale dei soggetti infetti e infettanti all'interno di una popolazione, considerando anche gli asintomatici non-tracciati che possono diffondere il virus e che possono influenzare il numero medio di nuovi casi generato da ogni infetto. La

sorveglianza attiva in grado di rilevare l'inizio della fase di replicazione esponenziale, in maniera anticipata rispetto all'ondata di casi sintomatici, potrebbe consentire (se non di evitare) almeno di minimizzare il sovraccarico degli ospedali.

Tornando al protocollo base menzionato in precedenza (Foddai et al., 2020b) e secondo l'approccio descritto sotto in Figura 3, è possibile correggere (in anticipo) il numero di soggetti da testare per i diversi propositi, controllando in maniera standardizzata e preventiva il margine d'errore dovuto alle assunzioni fatte sull'epidemiologia del virus, sul tipo di campionamento applicato e sulla/e performance del/i test usato/i. Per esempio, se i test antigenici rapidi venissero usati in alcune aree, perché più veloci ma meno attendibili del test molecolare, allora il numero di campioni e la rappresentatività delle stime ottenute tramite il loro uso, verrebbero comunque corrette nel numero di persone da campionare, minimizzando i costi e con indubbi vantaggi legati alla rapidità di risposta del test. Dopodiché sia le stime di prevalenza vera (corrette per gli errori diagnostici sui singoli individui), sia gli stati sanitari delle diverse popolazioni (infetta o indenne) sarebbero comparabili tra popolazioni e tra fasi dell'epidemia.

Nella Figura 3 mostriamo un diagramma generale che riassume i passaggi principali che pensiamo si potrebbero seguire per la sorveglianza attuale di COVID-19 tenendo conto dei principi spiegati sopra. Per informazioni più tecniche e dettagliate sul calcolo del numero di campioni da usare, sui rispettivi punti di forza e limitazioni da tener presenti, riferiamo alla pubblicazione base citata in precedenza (Foddai et al., 2020a-b).

continuo nell'intento di fornire ai decisori l'informazione più aggiornata e precisa possibile. Ricordiamoci infatti, che i test e i sistemi di sorveglianza danno una "foto istantanea" tramite la quale (appunto) deduciamo la situazione reale, sebbene non raggiungeremo mai la perfezione nella rappresentazione di quest'ultima. Per esempio, non avremo mai il 100% di confidenza in indennità I. Tuttavia più campioni facciamo e più la confidenza aumenta. In linea generale, i test più sensibili richiedono meno campioni per raggiungere lo stesso livello di sensibilità di sistema (S) e di confidenza in indennità(I).

Quindi nel primo passaggio (**Figura 3, I**) consideriamo due tipi principali di popolazioni, in base alle informazioni epidemiologiche che abbiamo a disposizione, prima di effettuare il primo campionamento attivo su base casuale. I due tipi di popolazione sarebbero: le popolazioni nelle quali non si è al corrente di casi di positività (**II.a**), e le popolazioni per le quali siamo al corrente della presenza di uno o più casi sintomatico/i o asintomatico/i (**II.b**).

Il primo tipo di popolazione (**II.a**) potrebbe essere indenne nella realtà e in tal caso vorremmo evitare di applicare misure di controllo della malattia se non necessarie. Perciò in tale tipo di popolazione lo scopo del sistema di sorveglianza sarebbe quello di trovare eventuali soggetti infetti difficilmente visibili (perché rari) con buone probabilità (S); almeno qualora l'ipotetica prevalenza (*design prevalence*) limite "x" (assunta prima della misurazione) fosse raggiunta nella realtà. Tale limite lo potremmo settare tenendo conto dell'eventuale (attesa) velocità di diffusione del virus in quella popolazione (es. basata su opinione di esperti, outputs di modelli di simulazione della diffusione di malattia, incursioni precedenti, focolai osservati in aree demograficamente simili ecc.), e comunque considerando un limite abbastanza basso che eviti di avere un allarme troppo tardivo, ma che tuttavia richieda costi e risorse di sorveglianza sostenibili. Qualora non il sistema di sorveglianza attiva non la sorveglianza clinica rilevino dei casi, si potrebbe concludere indennità (al momento del campionamento) con confidenza "I". Finché tale risultato (**III.a**) viene confermato (es. su base settimanale o bisettimanale), lo scopo e il tipo di sorveglianza rimangono immutati.

Se invece venisse riscontrata almeno una positività (**III.b**) allora la popolazione verrebbe classificata come infetta e lo scopo del sistema di sorveglianza diventerebbe quello di monitorare la prevalenza vera nella popolazione e l'eventuale impatto delle misure di controllo su di essa (**Scopo II.b**), es. finché il numero di casi rilevati non appaia uguale a zero (**III.c**). Dopodiché lo scopo di sorveglianza sarebbe (di nuovo) quello di dimostrare

indennità con confidenza "I" (**II.a**). Se invece il rilevamento dei casi persiste (**III.d**) allora si permane nello scopo (**II.b**).

In sintesi, l'obiettivo generale dell'approccio mostrato in Figura 3, è quello di massimizzare le popolazioni per le quali si può provare a dimostrare indennità (**II.a**) e minimizzare invece le popolazioni per le quali si deve stimare la prevalenza vera perché infette (**II.b**). La distinzione tra i due tipi di popolazione e i rispettivi scopi di sorveglianza è fondamentale, perché consentirebbe sia di evitare le restrizioni e le perdite economiche ad esse annesse nelle aree indenni, sia di indirizzare le risorse di controllo alle aree infette (minimizzando perdite in termini di decessi e salute). Qualora invece la distinzione e la limitazione dei movimenti tra le due aree non fossero abbastanza efficaci, al rilassamento delle misure nelle zone infette, potrebbe seguire un aumento dei casi in tali zone e/o l'introduzione di malattia dalle popolazioni infette verso quelle indenni. **A quel punto lockdown generalizzati ed estesi per lunghi periodi potrebbero essere necessari.** Pensiamo che il diagramma riportato in Figura 3, possa aiutare a limitare certe situazioni.

Inoltre, tale approccio potrebbe minimizzare il numero di campioni da testare e consentirebbe di settare il sistema di sorveglianza in maniera obbiettiva e flessibile. Per esempio, nella situazione II.b (popolazione infetta), se le stesse persone selezionate potessero esser testate contemporaneamente sia per la ricerca del virus o parti di esso (tramite PCR o test antigenico) sia per la ricerca di anticorpi (es. ELISA anticorpale), allora potremmo selezionare il numero di soggetti sufficiente per stimare sia la prevalenza vera degli infetti sia la prevalenza vera dei positivi agli anticorpi (usando i rispettivi input quando si calcola l'apposito numero di campioni da testare, Foddai et al., 2020b). Se si calcola il numero di campioni da testare per raggiungere entrambi gli obbiettivi, e se si usa il numero maggiore ottenuto tra i due calcoli, allora prepareremmo il campionamento per raggiungere la precisione e la confidenza desiderate per entrambi i tipi di prevalenza. **In tal modo si potrebbero monitorare in tempo reale sia la diffusione del virus, sia lo sviluppo di immunità di gregge nella stessa popolazione.** Questo consentirebbe di valutare il progresso e l'efficacia del piano vaccinale, il quale potrebbe esser "aggiustato" in tempo reale (es. indirizzato prima alle popolazioni con livelli di immunità inferiori e ad alto rischio di introduzione/diffusione).

3. Vantaggi e limiti del protocollo base veterinario

Sebbene i principi del protocollo base veterinario (Foddai et al., 2020a-b), hanno già avuto un uso estensivo nella sorveglianza delle malattie animali, pare che essi possano esser applicati anche alla sorveglianza di malattie umane. Per esempio, in un recente studio pubblicato su Nature Communications (Michael et al., 2018) è stato dimostrato come il principio di evidenza (confidenza) di indennità, basata su campionamenti ripetuti di sorveglianza, possa esser applicato per infezioni parassitiche a livello di comunità umana, considerando tra i riferimenti la metodologia veterinaria (Martin et al., 2007a-b).

Come si evince da quanto fin qui esposto, lo scopo principale di applicare il protocollo base veterinario al contesto epidemiologico COVID-19, sarebbe quello di raggiungere conclusioni a livello di popolazione come "corpo unico", piuttosto che su positività o negatività nel singolo soggetto testato. Oltretutto, il campionamento casuale, se propriamente effettuato consentirebbe di assicurare che le diverse fasce di età presenti nella popolazione siano adeguatamente rappresentate tra i soggetti campionati. Si capirebbe quindi se le variazioni osservate nella popolazione sono dovute realmente alla diffusione dell'agente patogeno, piuttosto che al tipo di sorveglianza fatta.

Allo stesso tempo, ci teniamo a precisare che un eventuale sistema di sorveglianza basato sul campionamento casuale della popolazione, richiederebbe una adeguata comprensione e una forte partecipazione da parte di quest'ultima. Infatti un basso tasso di partecipazione da parte dei cittadini selezionati per il test, ridurrebbe la rappresentatività, i vantaggi e l'utilità del sistema. Quindi riconosciamo in anticipo che le principali difficoltà potrebbero essere: la scarsa partecipazione al piano di campionamento, il ripetuto calcolo del numero di campioni da prelevare, la "randomizzazione" dei soggetti da testare, le risorse di personale necessario (es. per: "randomizzare" le liste, da adibire a campionamento e test, e per l'analisi statistica dei dati ottenuti).

Tuttavia, la partecipazione delle persone selezionate potrebbe esser massimizzata tramite una comunicazione adeguata e trasparente della procedura, dei suoi fini, dei suoi vantaggi e svantaggi; per esempio tramite presentazione nei media televisivi. Studi pilota iniziali, limitati a piccole popolazioni, possono esser fatti per validare il protocollo (Figura 3) sul campo e possono esser comunicati al pubblico come esempio, prima di lanciare la procedura a livello nazionale.

La "randomizzazione" delle persone da testare potrebbe essere difficile nelle prime applicazioni della procedura. Per tale scopo (qualora fosse consentito per legge) si potrebbero usare le liste di residenti in un dato comune/provincia/regione. L'informazione base sarebbe per esempio: nome, cognome, n. passaporto, indirizzo (propriamente formattato), età (o data di nascita), contatto telefonico e email.

Una volta che tale tipo di lista fosse standardizzata tra centri abitati, si potrebbero settare programmi/codici appositi in softwares (es. in R, SAS ecc) che consentano una "randomizzazione" e un calcolo del campione da testare in maniera semplice e velocemente ripetibile; indipendentemente dalla grandezza e dal numero delle popolazioni considerate. A quel punto una singola figura professionale può organizzare il campionamento per diverse popolazioni. In maniera simile, si potrebbero standardizzare programmi/codici di analisi statistica dei dati ottenuti da ogni popolazione campionata. Da questo punto di vista, epidemiologi di veterinaria e di sanità pubblica umana, ricercatori impiegati nelle università e altri tipi di esperti nell'uso di dati di sorveglianza nazionali, potrebbero fornire un importante supporto tecnico anche su base volontaria.

4. Conclusioni

I benefici derivanti dall'adattamento al contesto epidemico di COVID-19 del metodo di sorveglianza basato su indagini ripetute a random per il controllo delle infezioni, ben documentato in sanità animale e descritto nel protocollo base proposto, dovrebbero essere riconosciuti dalle istituzioni di sanità pubblica nell'ambito delle iniziative *One Health*, presenti e future. Ovviamente la piena applicazione del protocollo richiede la piena collaborazione tra epidemiologi di medicina umana e veterinaria, la condivisione dei dati e del *know-how* epidemico afferenti ai domini specifici, oltre che il superamento di alcuni ostacoli relativi alla legislazione e alla disponibilità dei test e di personale. Tra i punti di forza, vi sarebbero il pieno coinvolgimento della popolazione nelle misurazioni effettuate, una evidente semplicità di comunicazione di pochi parametri facilmente comprensibili, l'obiettività e ripetibilità delle misurazioni ottenute su base statistica, e l'applicazione delle misure necessarie in tempo reale. In un contesto epidemiologico pandemico su cui gravano pressioni etiche, sociali ed economiche, l'ottimizzazione delle attività di sorveglianza con flussi informativi rapidi ed affidabili fornisce al livello politico-decisionale una base robusta di evidenze scientifiche indispensabili per razionalizzare le risorse disponibili (personale e capacità di laboratorio) ed adottare misure tempestive, adeguate e sostenibili per mantenere

o migliorare lo status epidemiologico-sanitario della popolazione e minimizzare l'impatto epidemico.

Riferimenti

- Direttiva del Consiglio (64/432/CEE) del 26 giugno 1964 relativa a problemi di polizia sanitaria in materia di scambi intracomunitari di animali delle specie bovina e suina. 1964L0432 — IT — 13.11.2007 — 012.001 — 1
- Decisione della Commissione (2000/504/CE) del 25 luglio 2000 recante misure transitorie relative agli esami per l'accertamento della tubercolosi bovina nel quadro della direttiva 64/432/CEE del Consiglio
- Foddai, A., Lindberg, A., Lubroth, J., Ellis-Iversen, J., 2020a. Surveillance to improve evidence for community control decisions during the COVID-19 pandemic. Opening the animal epidemic toolbox for public health. *One Health* 9; 1-2. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2020.100130>
- Foddai, A., Lubroth, J., Ellis-Iversen, J., 2020b. Base protocol for real time active random surveillance of Coronavirus disease (COVID-19) – Adapting veterinary methodology to public health. *One Health* 9; 1-5, <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2020.100129>
- Heffernan, J.M., Smith, R.J., Wahl, L.M., 2005. Perspectives on the basic reproductive ratio. *J. R. Soc. Interface*, 2; 281-293.
- Hoinville, L.J., Alban, L., Drewe, J.A., Gibbens, J.C., Gustafson, L., Häbler, B., Saegerman, C., Salman, M., Stärk, K.D.C., 2013. Proposed terms and concepts for describing and evaluating animal-health surveillance systems. *Prev. Vet. Med.* 112; 1-12.
- Martin, P.A.J., Cameron, A.R., Greiner, M., 2007a. Demonstrating freedom from disease using multiple complex data sources 1: A new methodology based on scenario trees. *Prev. Vet. Med.* 79; 71-9. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2006.09.008>
- Martin, P.A.J., Cameron, A.R., Barfod, K., Sergeant, E.S.G., Greiner, M., 2007b. Demonstrating freedom from disease using multiple complex data sources 2: Case study Classical swine fever in Denmark. *Prev. Vet. Med.* 79; 98-115. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2006.09.007>
- Michael, E., Smith, M.E., Katarbwa, M.N., Byamukama, E., Griswold, E., Habomugisha, P., Lakwo, T., Tukahebwa, E., Miri, E.S., Eigege, A., Ngige, E., Unnasch, T.R., Richards, F.O., 2018. Substantiating freedom from parasitic infection by combining transmission model predictions with disease surveys. *Nat. Commun.* 9; 1-13. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06657-5>