

Epidemiologia nel controllo delle malattie dei pesci

Dr Ignacio de Blas
Facoltà di Veterinaria
Università di Zaragoza (Spagna)



Erice, 24 ottobre 2008

Workshop “Acquacoltura mediterranea: aspetti normativi e sanitari a confronto”



Epidemiologia perché?

Direttiva 2006/88/CE del Consiglio relativa alle condizioni di polizia sanitaria applicabili alle specie animali d'acquacoltura e ai relativi prodotti, nonché alla prevenzione di talune malattie degli animali acquatici e alle misure di lotta contro tali malattie

Programma di sorveglianza sanitaria (Art. 10):

- **basato sulla valutazione dei rischi**
- **un eventuale aumento del tasso di mortalità** (in funzione del tipo di produzione)
- **malattie elencate** (seconda presenti specie animali sensibili) (Allegato IV)
- **tutti aziende e zone destinate a molluschicoltura**



Epidemiologia comparativa

Terrestre

vs

Acquatica

Pochi specie sensibili

Lotto specie sensibili

Piccola popolazione di allevamento

Enorme popolazione di allevamento

Dimensioni della popolazione sconosciute

Dimensioni della popolazione conosciute

Separazione selvatici-allevamento

Misto selvatici-allevamento

Bassa interazione con l'ambiente

Alta interazione con l'ambiente

Diagnosi indirette (sierologia)

Diagnosi diretta

Campionamento non distruttivo

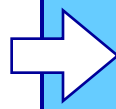
Campionamento distruttivo



Domande & Risposte

È la malattia/patogeno assente?

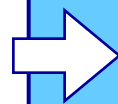
**Individuazione
delle malattie**



Monitoraggio (stato libero)
Programmi di eradicazione

Quanti malati?

Calcolo Prevalenza



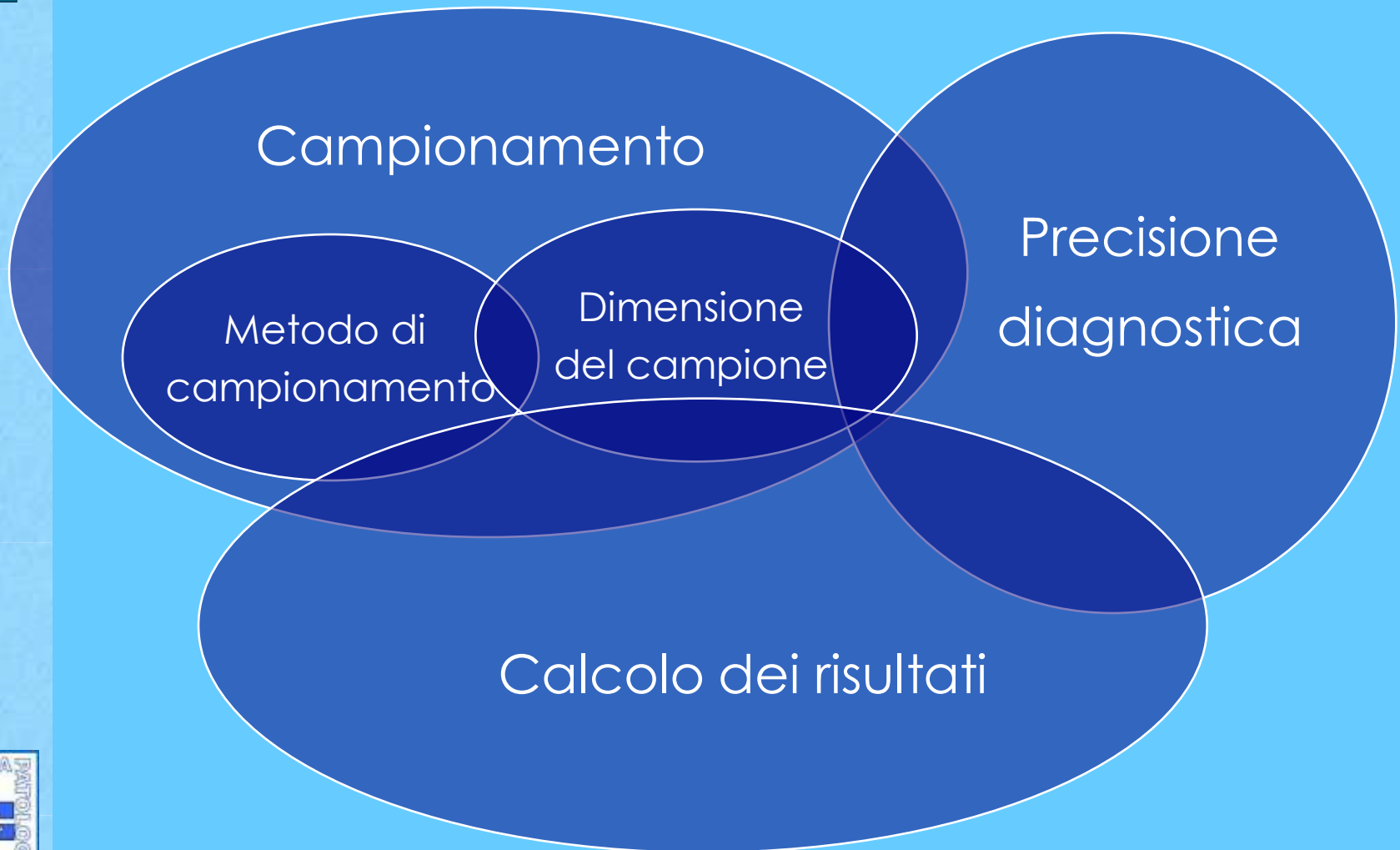
Programmi di controllo

Quali sono le variabili coinvolte?

Valutazione dei fattori di rischio



Elementi di indagini epidemiologiche





Individuazione delle malattie





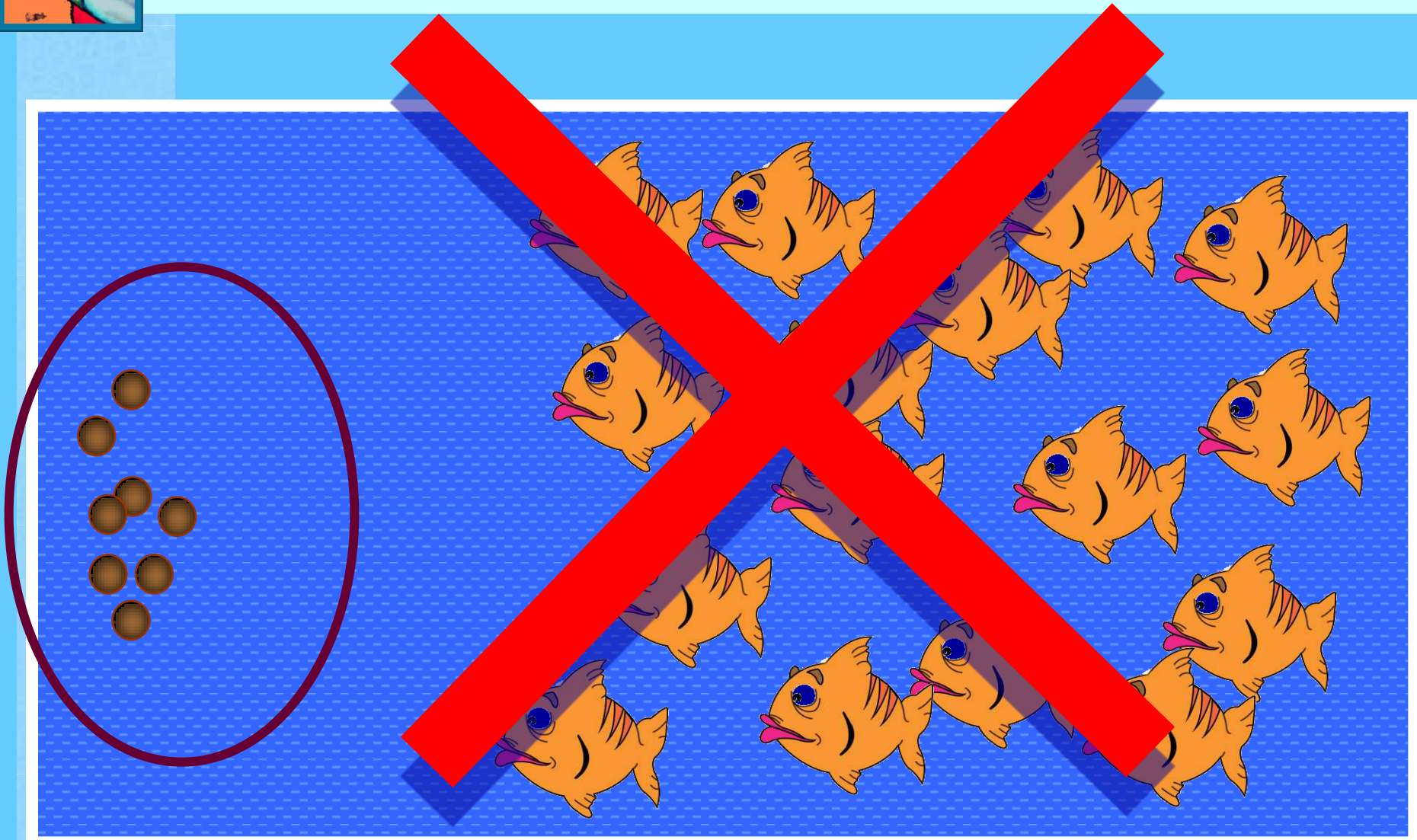
Metodi di campionamento

- Probabilistici (casuale)
- Non probabilistici

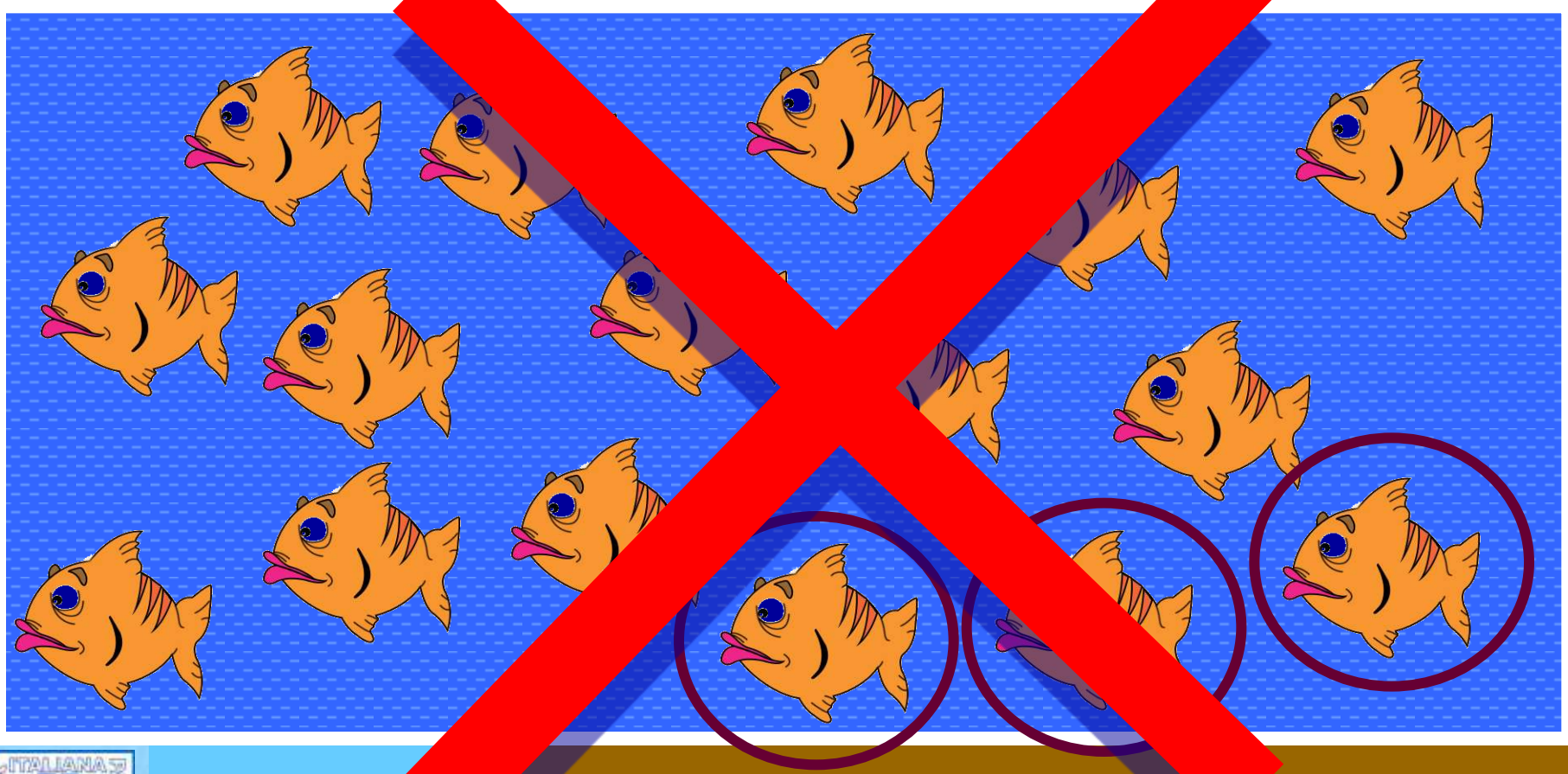
↑ Probabilità di
Individuazione



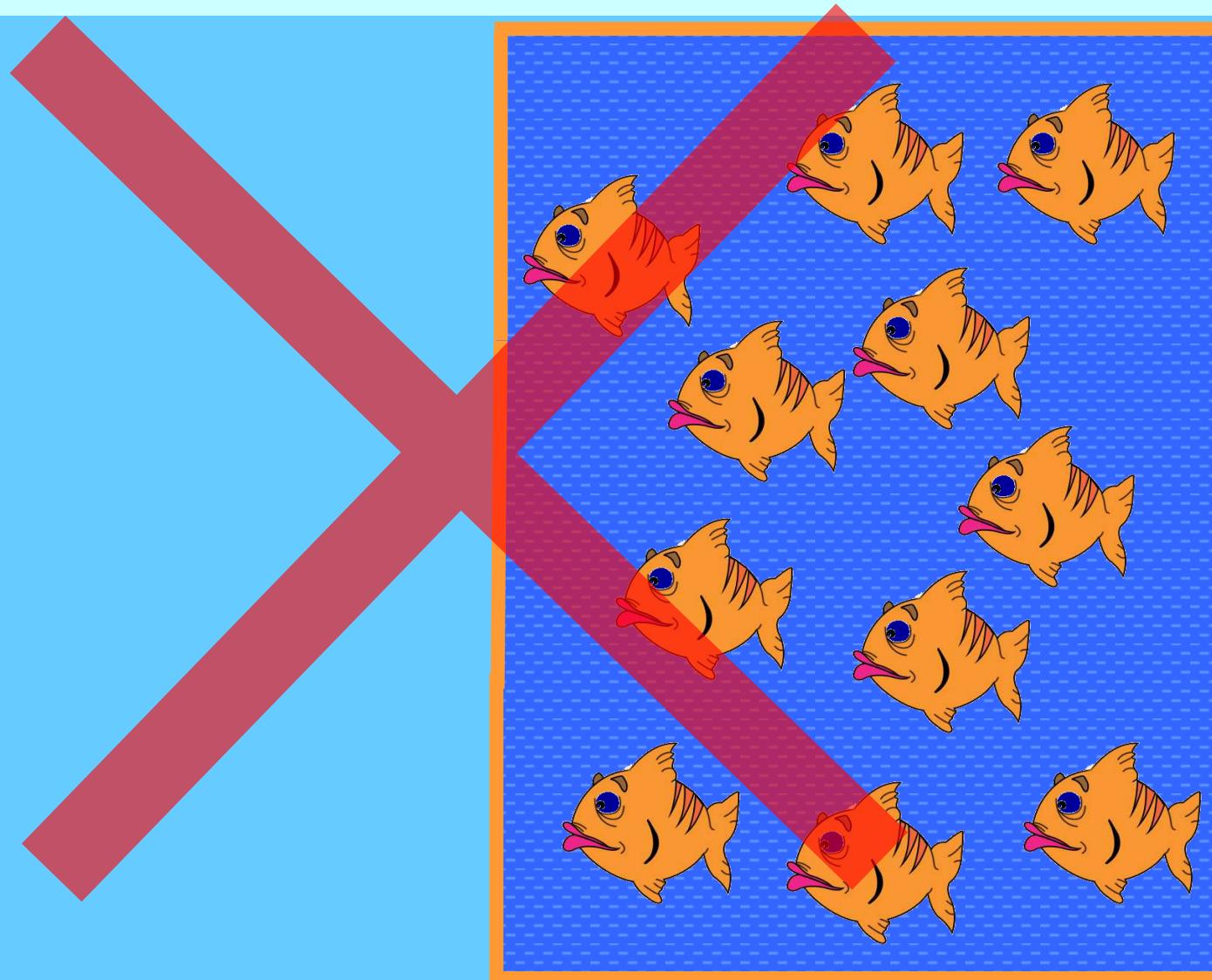
Campionamento dei volontari



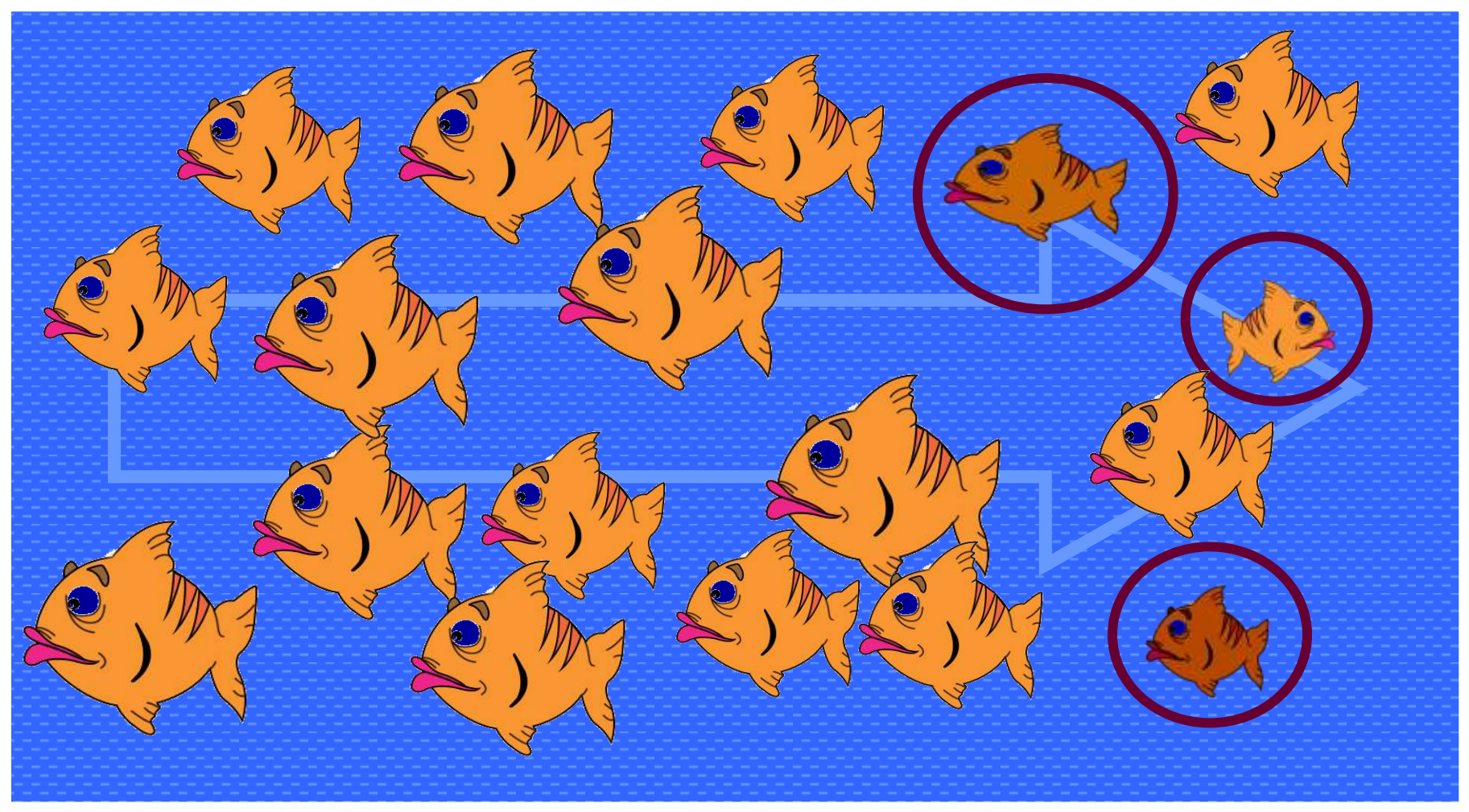
Campionamento per convenienza



Consecutivi o palla di neve



In base a criteri oggettivi





Decisione della Commissione 2001/183

Per VHS e IHN:

I controlli clinici vanno effettuati nel periodo compreso tra ottobre e giugno o comunque quando la temperatura dell'acqua è inferiore a 14°C. Se le aziende sono sottoposte a controllo clinico due volte all'anno, l'intervallo tra un controllo e l'altro deve essere almeno di quattro mesi. In tutte le unità di produzione (stagni, vasche, gabbie, ecc.) va rilevata la presenza di pesci morti, deboli o dal comportamento anomalo. In particolare, vanno controllate le zone in prossimità delle griglie di scarico, dove i soggetti deboli tendono ad accumularsi spinti dalla corrente.



Individuazione delle malattie: dimensione del campione

$$n = \left(1 - 0.05^{\frac{1}{d}} \right) \cdot \left(N - \frac{d-1}{2} \right)$$

Metodo di campionamento
non probabilistico



Manuale delle OIE di Esami Diagnostici per Animali Acquatici

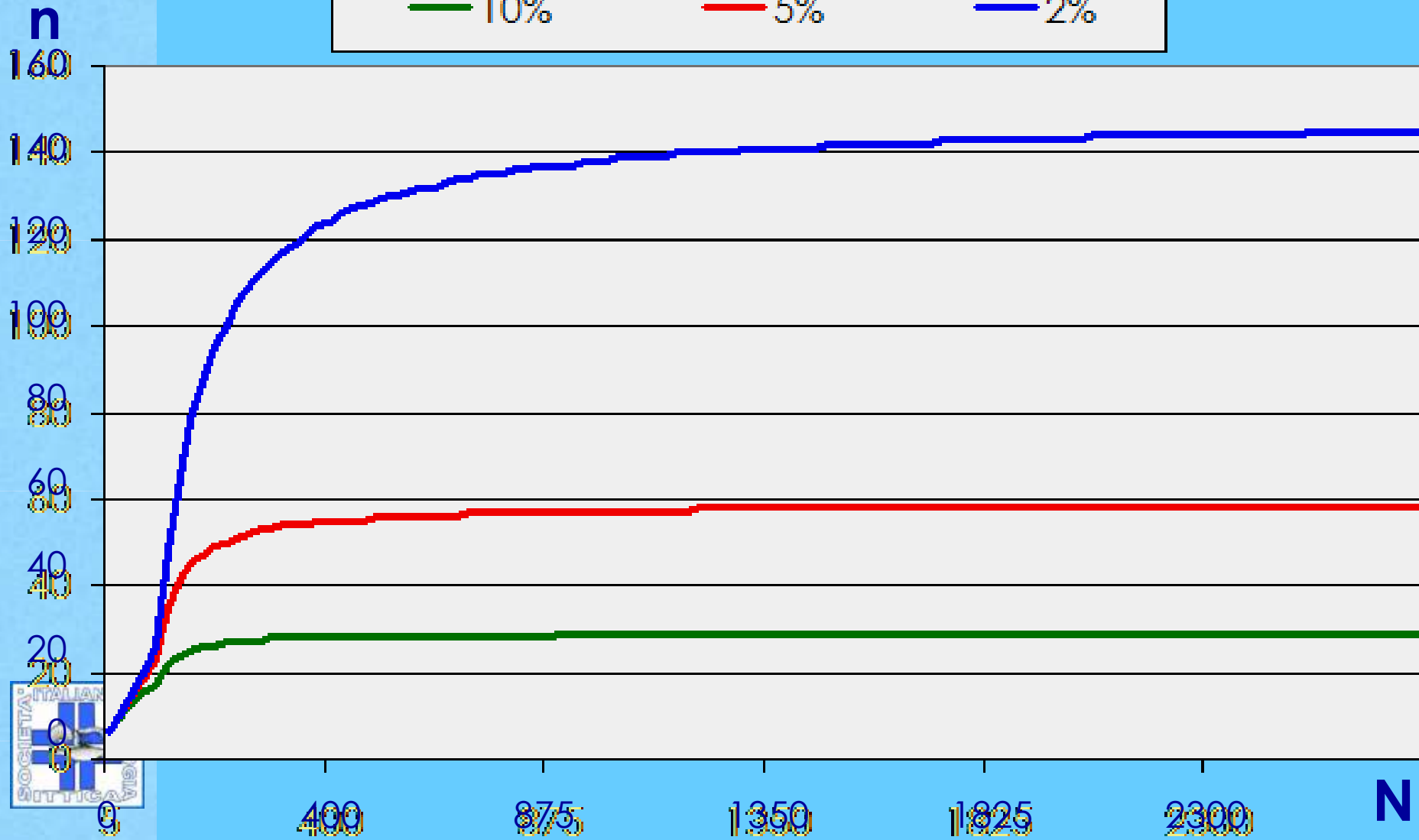
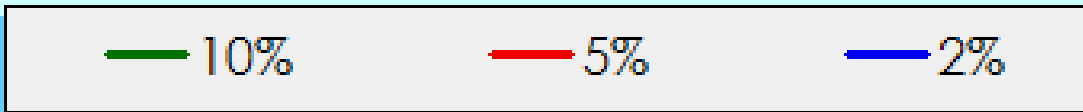
Un progetto adatto prevalenza valore al livello degli animali (ad esempio prevalenza di animali infetti in una gabbia), possono essere:

- tra l'1% e 5% per le infezioni che vengono trasmesse lentamente, e
- oltre il 5% per infezioni maggiormente contagiose.

Un progetto adatto prevalenza valore per il primo livello di clustering, (ad esempio percentuale di aziende infette in una zona), può essere fino al 2%



Individuazione delle malattie





Precisione diagnostica

Massimo Valore
Predittivo Negativo

Massima Sensibilità

Precisione diagnostica

$$\text{Sensibilità} = P(\text{Positivi} \mid \text{Infetti})$$

Gold standard

Valutata test

	Infetti	Sano	Totale
Positivi	Vero Positivi	Falsi Positivi	
Negativi	Falsi Negativi	Vero Negativi	
Totale	Infetti	Sano	

$$\text{Specificità} = P(\text{Negativi} \mid \text{Sano})$$





Precisione diagnostica

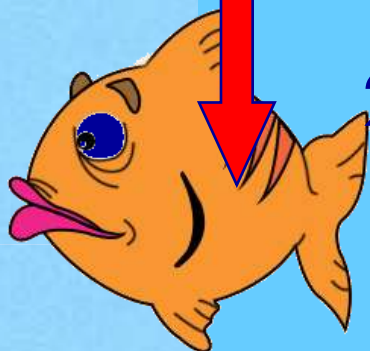
Ridurre
al minimo
i Falsi Negativi



Motivi di Falsi Negativi

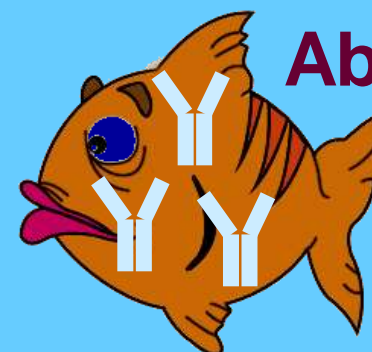
- Capire l'evoluzione temporale della malattia
- Limite di rilevazione delle prove diagnostiche
- Uso delle *pools* (campione collettivo)

Evoluzione temporale della malattia



1. Periodo di Latenza

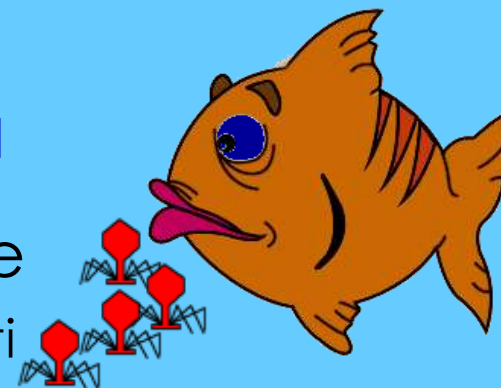
Infezione \Rightarrow Diagnosi



2. Periodo di Prepatenza

Infezione \Rightarrow Infectante

Rilascio di agenti patogeni

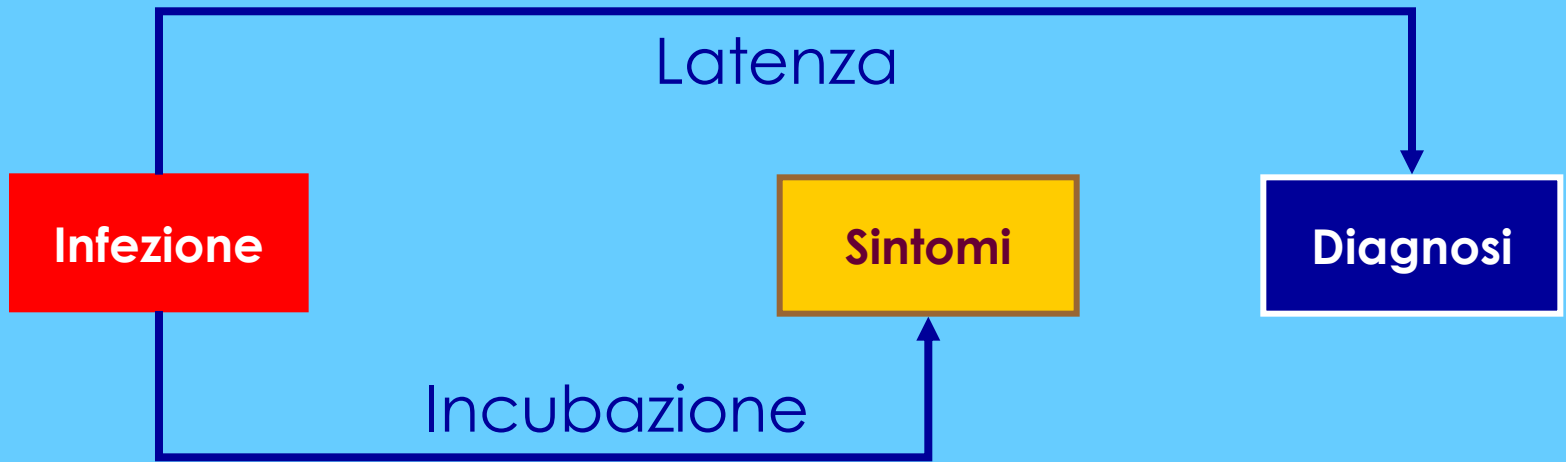


3. Periodo di Incubazione

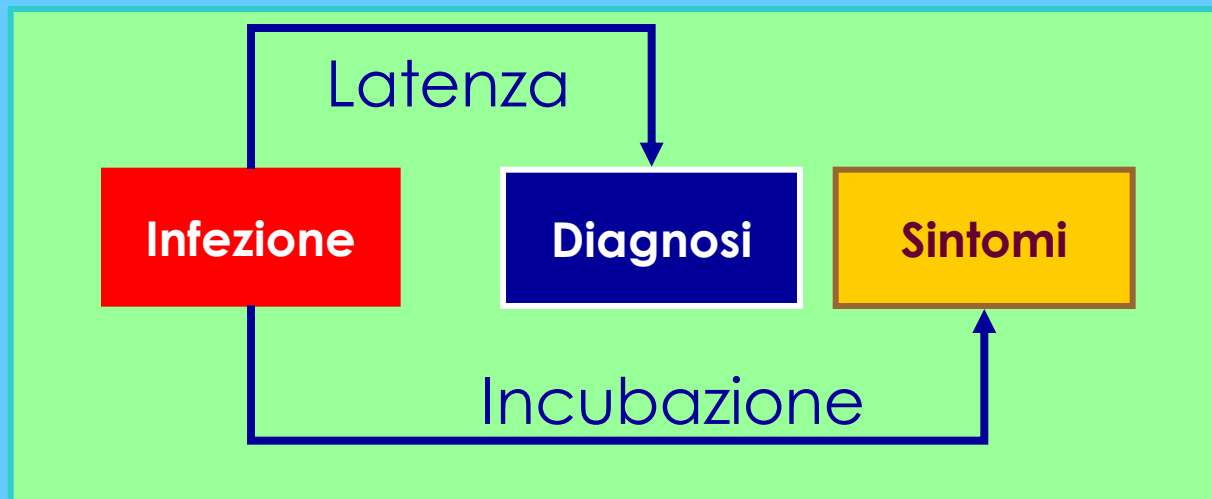
Infezione \Rightarrow Malattia



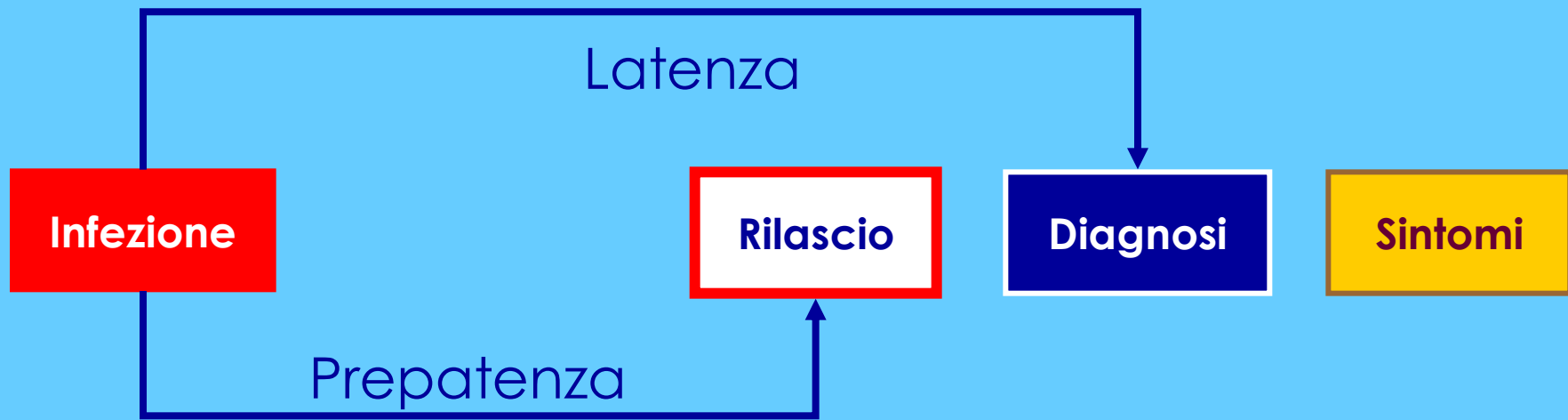
Latenza > Incubazione



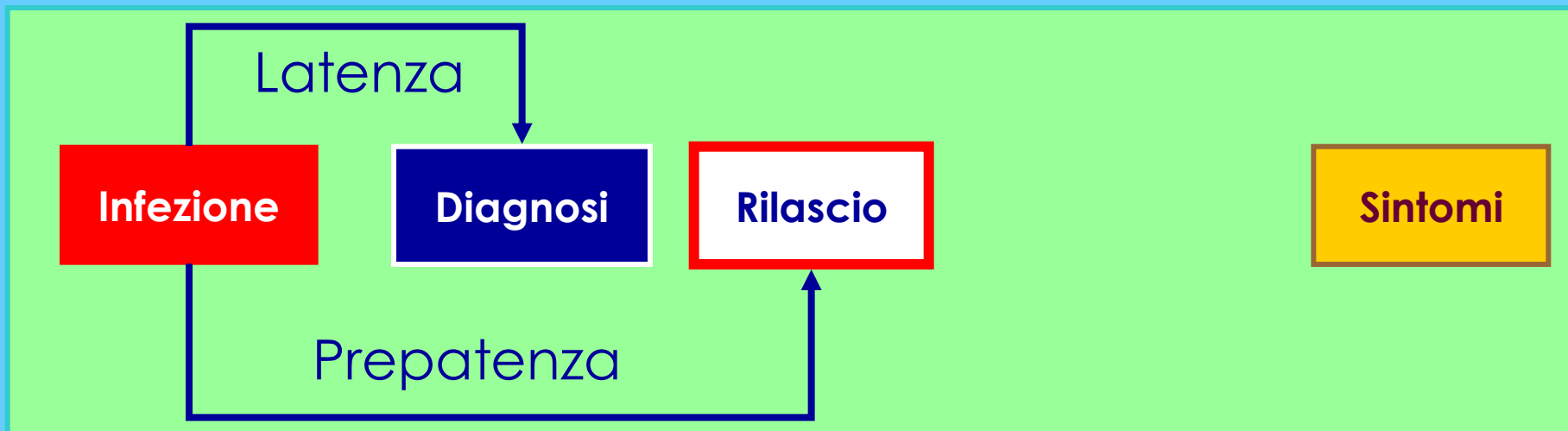
Latenza < Incubazione



Latenza > Prepatenza



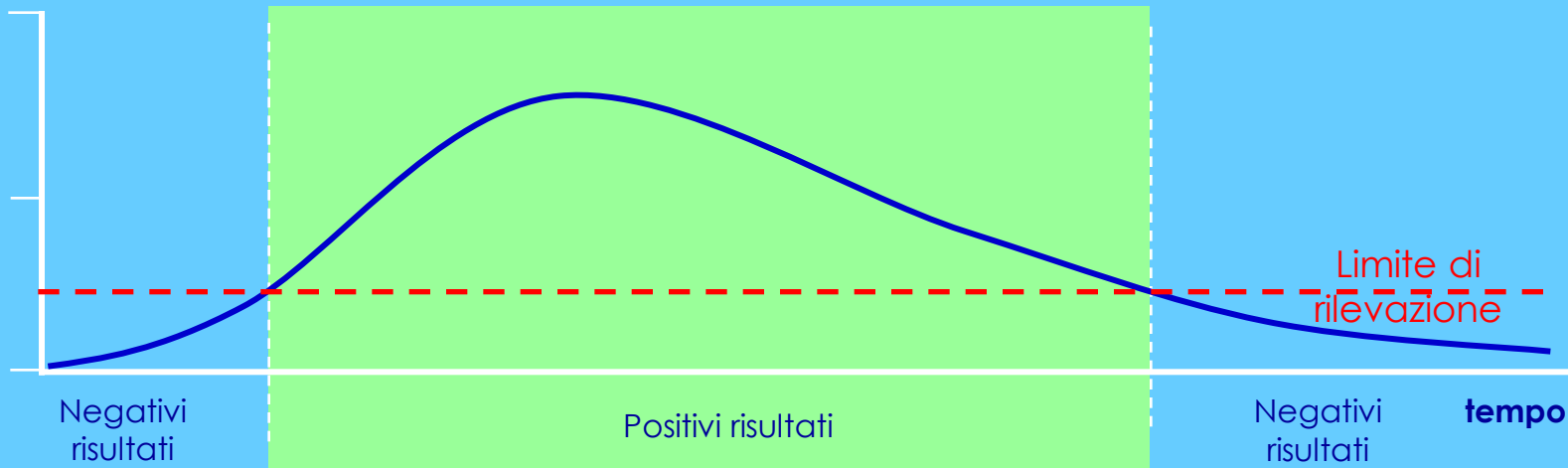
Latenza < Prepatenza



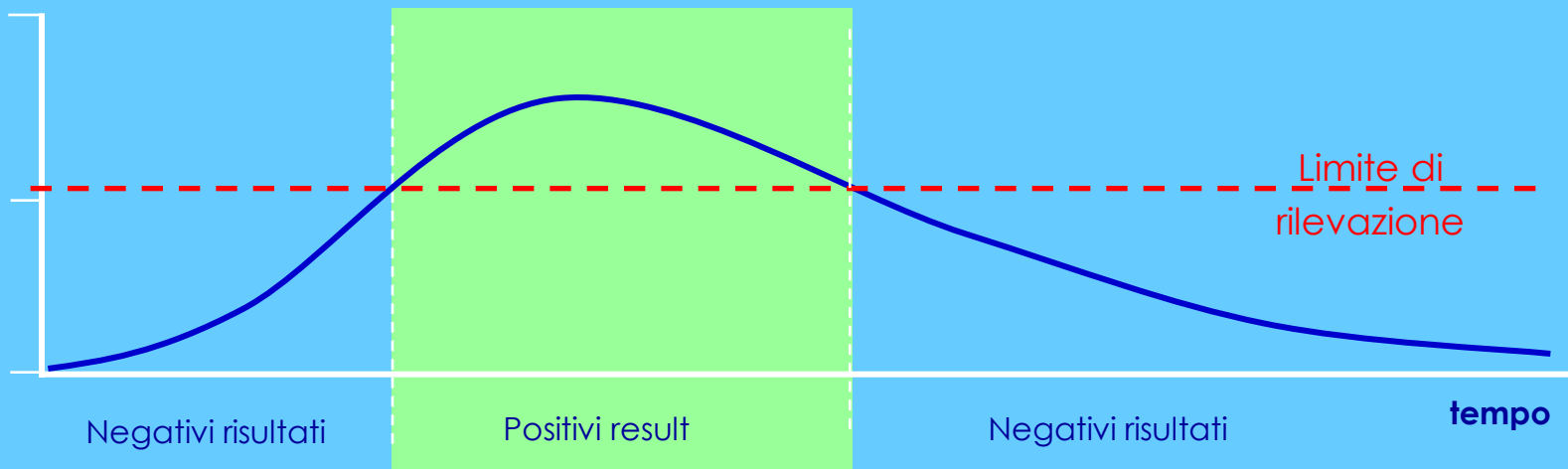


Limite di Rilevazione vs Sensibilità

Carico infestante



Carico infestante

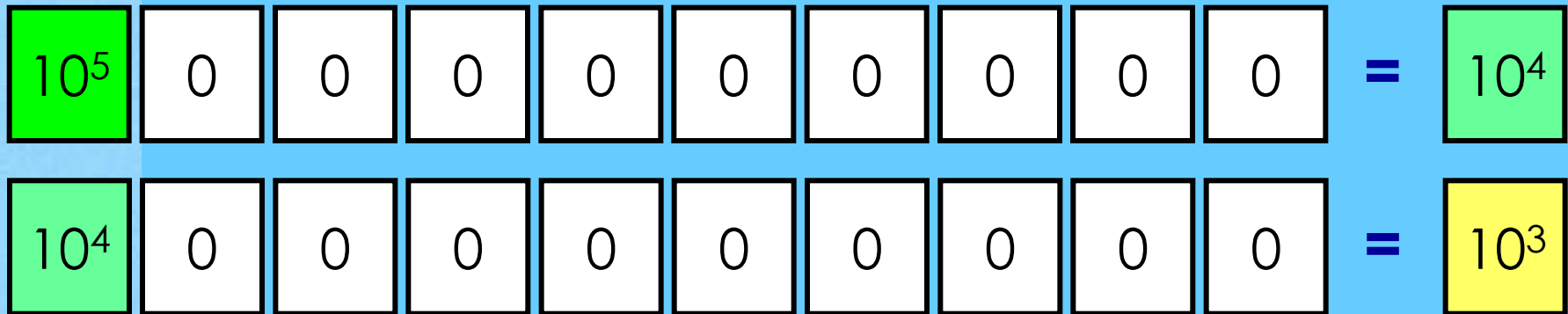




Conseguenze delle *pooling*

Effetto di diluizione \Rightarrow \downarrow Sensibilità

Esempio: Limite di Rilevazione $\geq 10^4$



Fattori da prendere in considerazione:

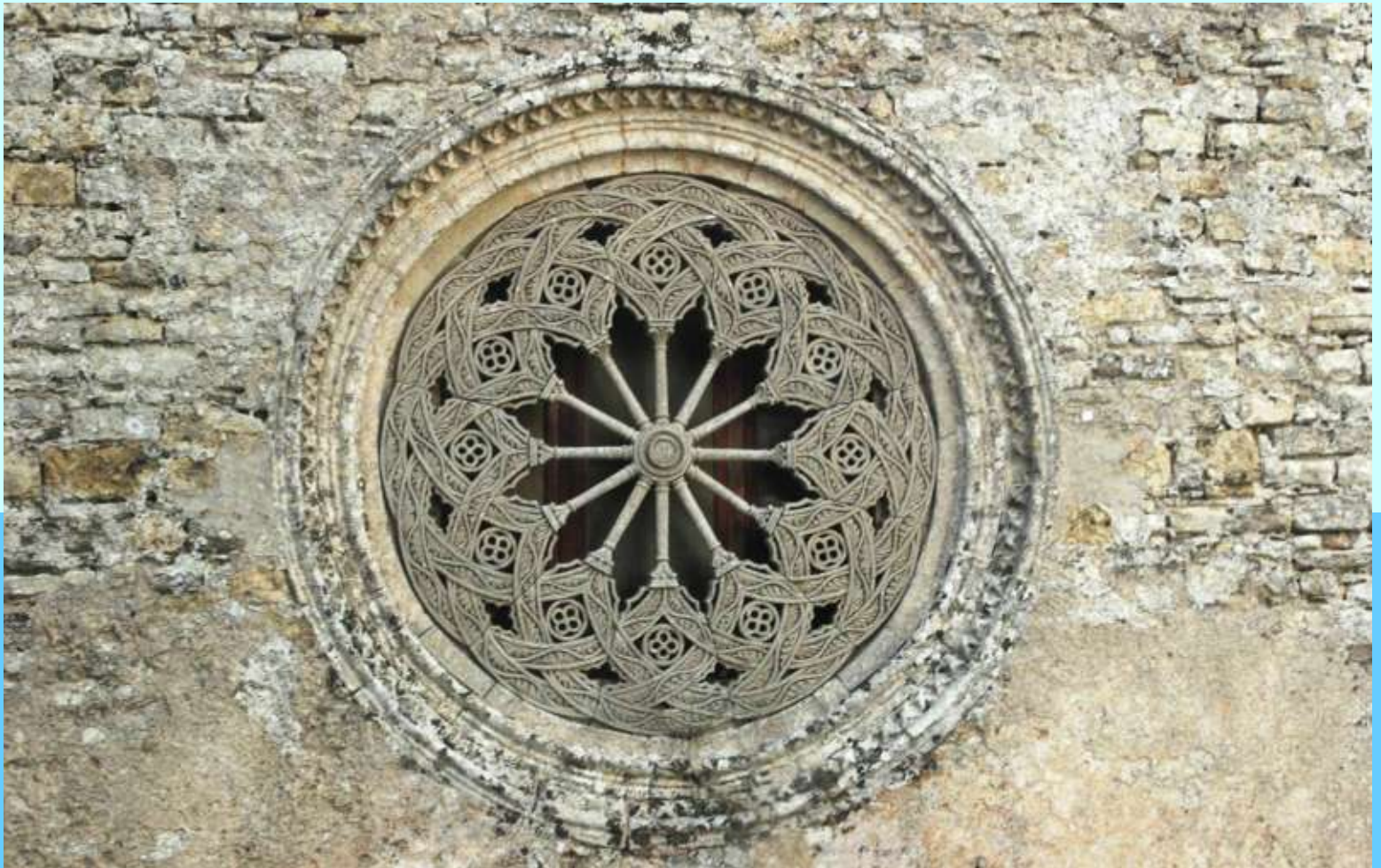
- Livello di rilevamento
- Dimensioni del *pool*
- Carico infestante in asintomatici / malati
- Prevalenza



Decisione della Commissione 2001/183

Si possono raccogliere in una provetta sterile contenente perlomeno 4 ml di medium di trasporto parti di organo o fluido ovarico provenienti da un massimo di 10 pesci, che costituiscono un campione collettivo. In ogni campione il tessuto dovrebbe pesare almeno 0.5 g

Calcolo della Prevalenza



Metodi di campionamento

- Probabilistici (casuale)
- Non probabilistici

Massima
rappresentatività

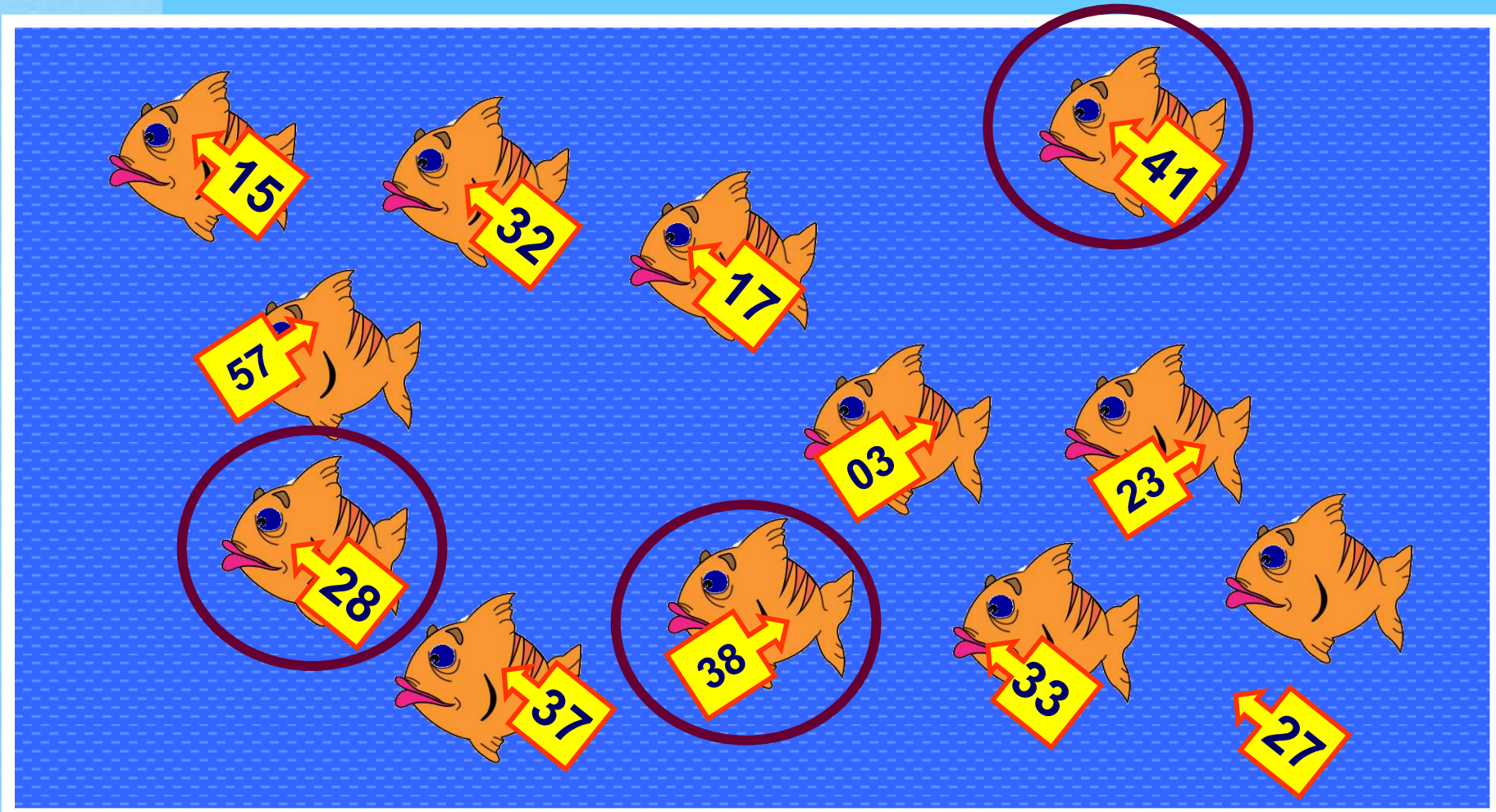




Metodi random/aleatorio

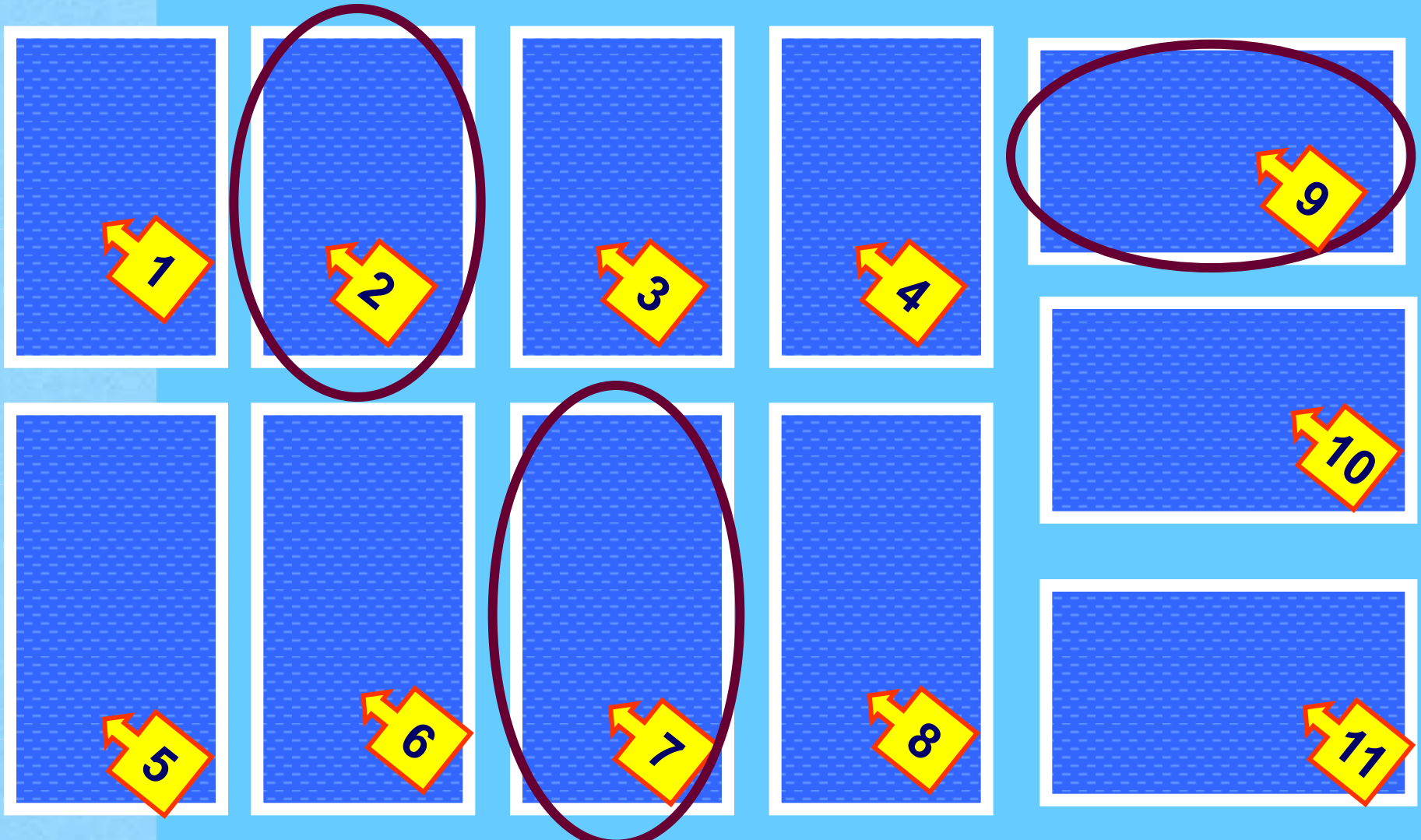
- Campionamento casuale semplice o puro
- Campionamento sistematico
- Campionamento stratificato
 - Distribuzione proporzionale
 - Distribuzione significativa
- Campionamento raggruppati (*clustered*)
- Campionamento di multiple fase

Campionamento casuale puro

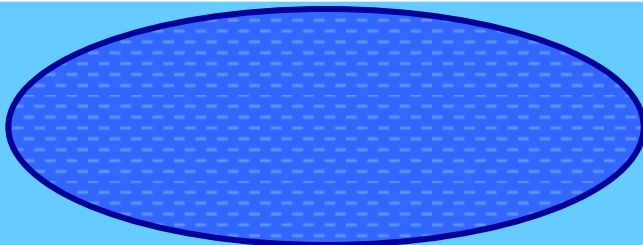
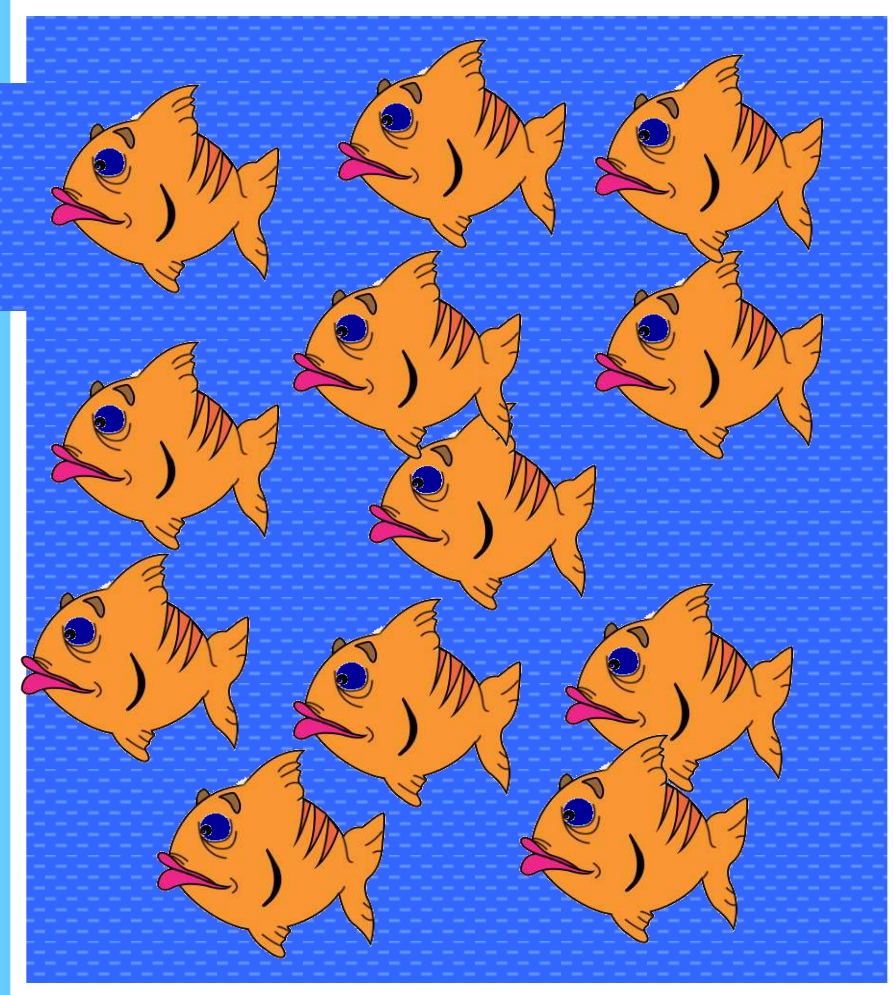
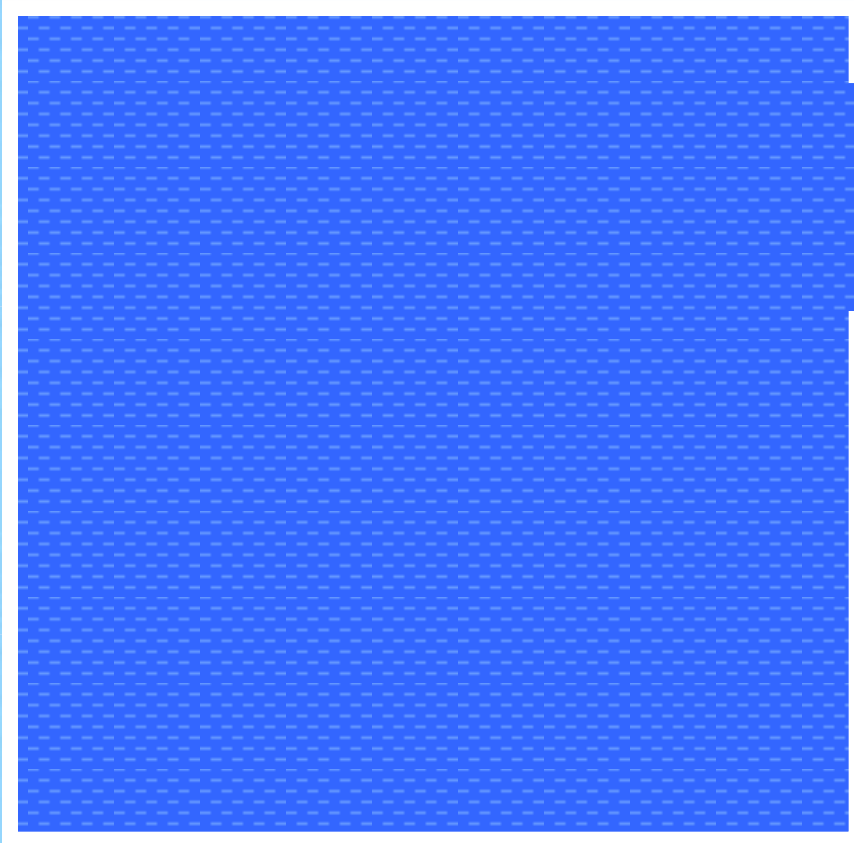




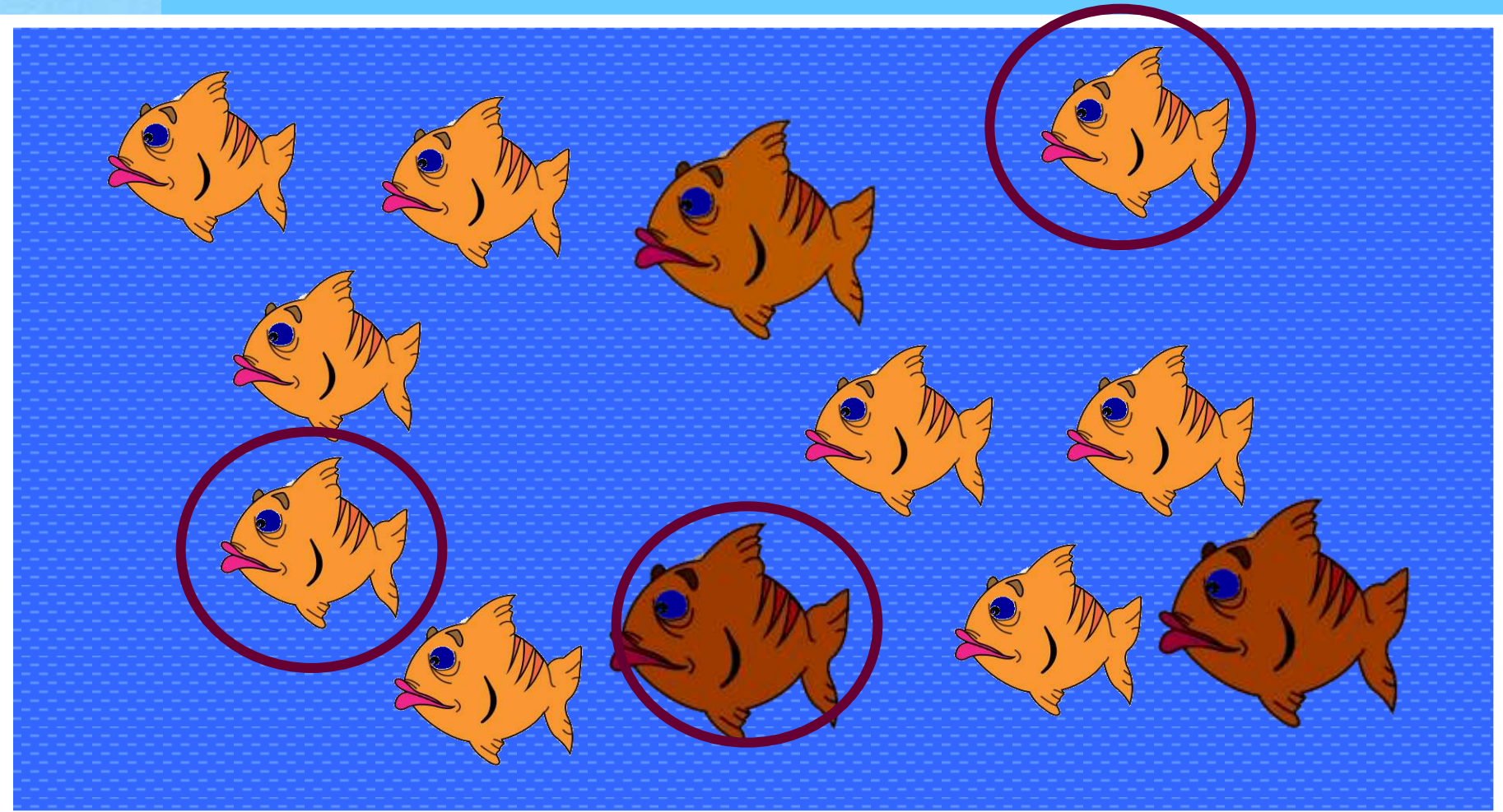
Campionamento casuale puro



Campionamento sistematico

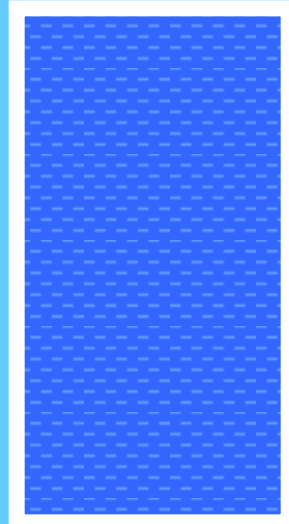
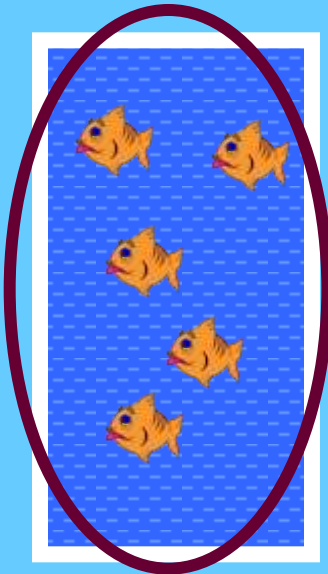
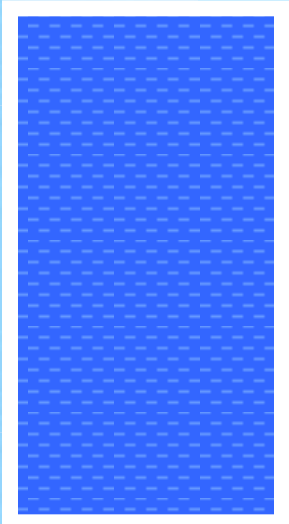
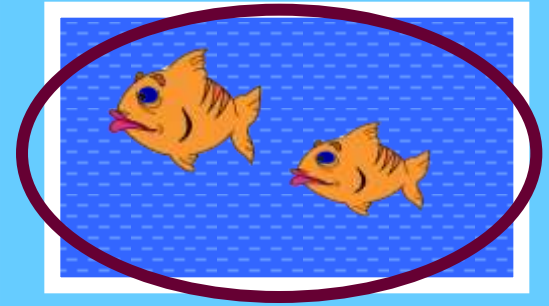
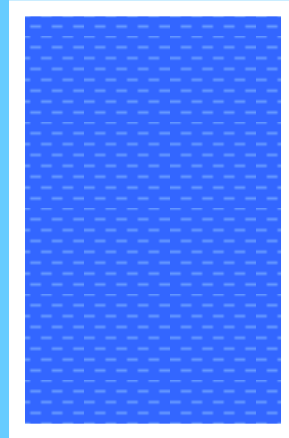
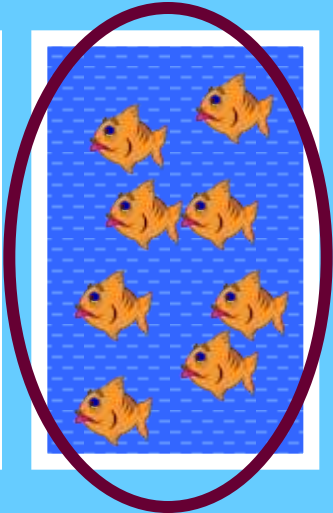
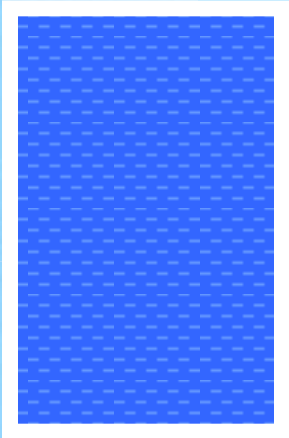


Campionamento stratificato



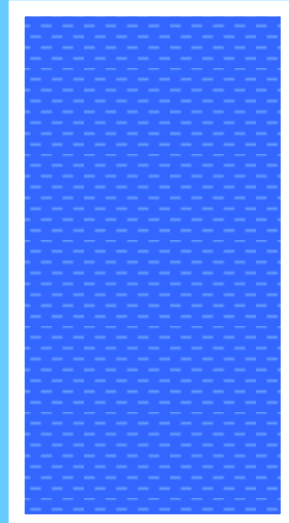
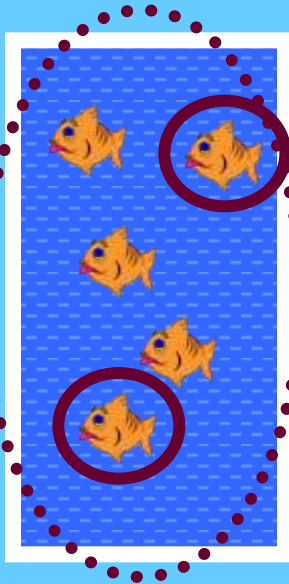
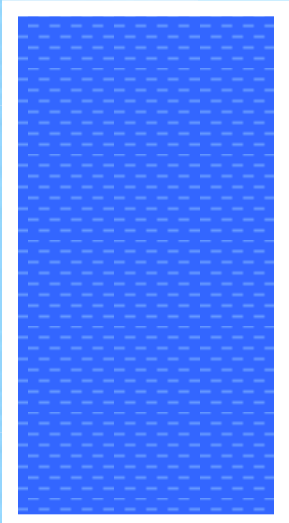
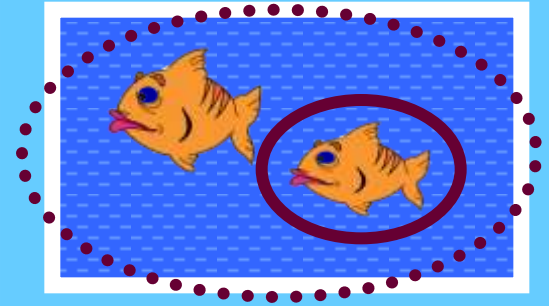
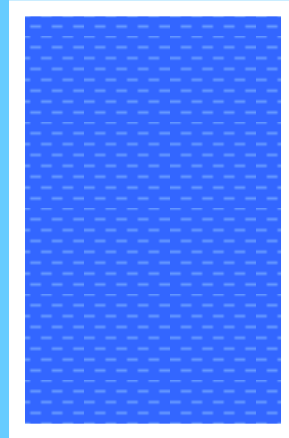
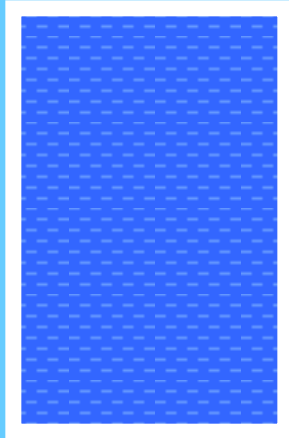
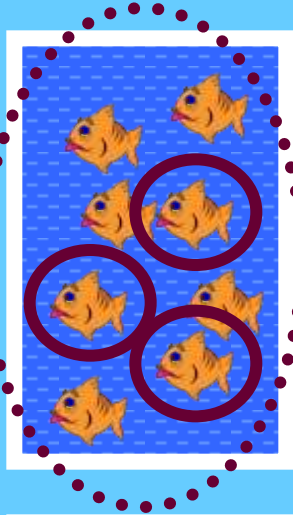
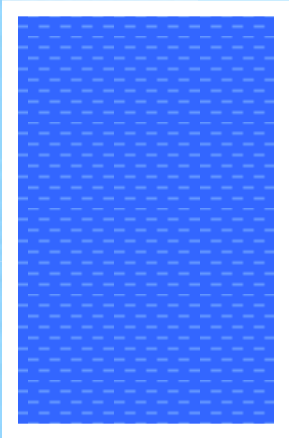


Campionamento raggruppati





Campionamento di multiple fase





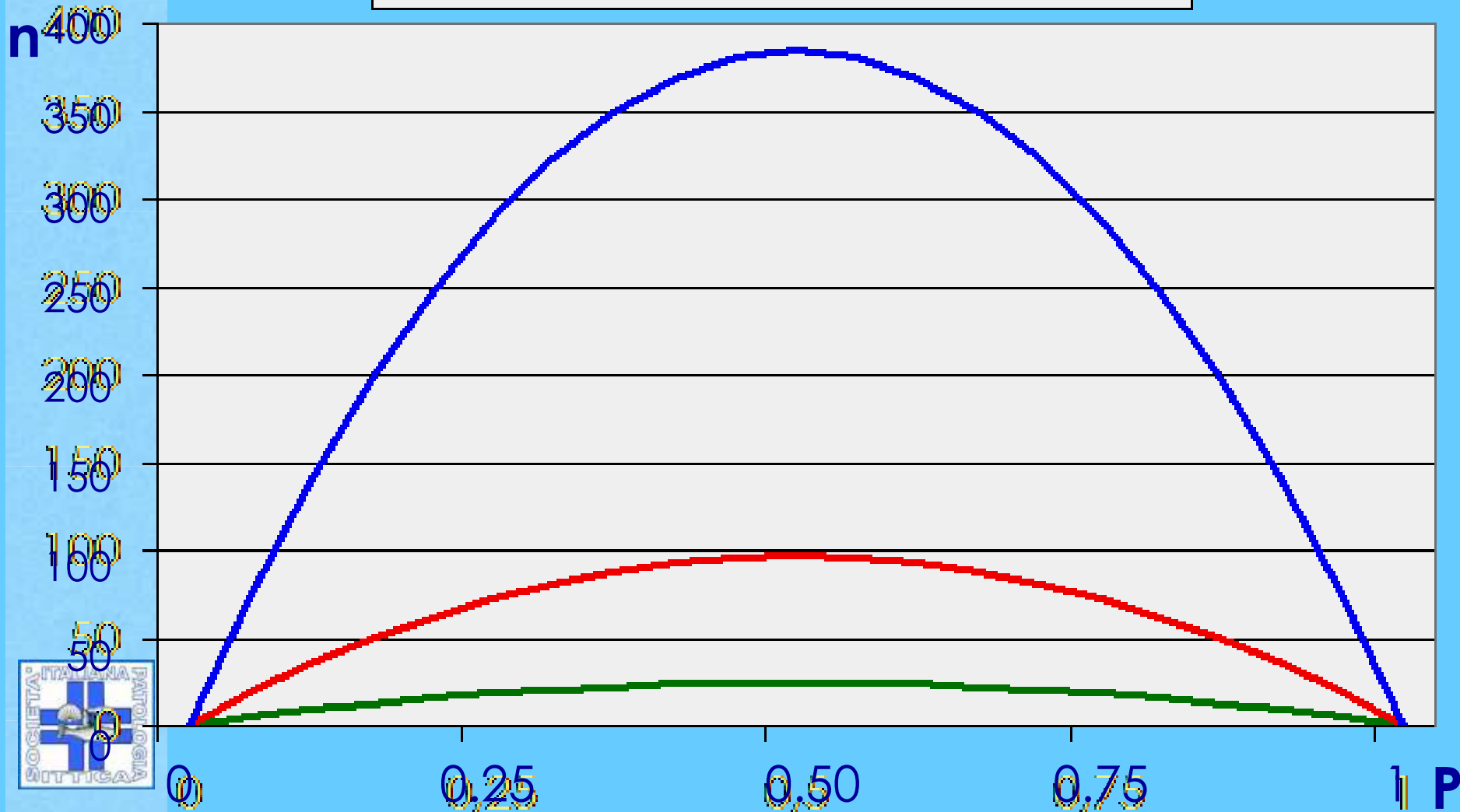
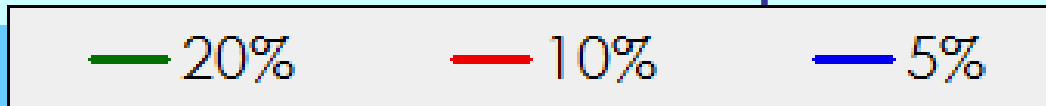
Calcolo della Prevalenza: dimensione del campione

$$n = 3.8416 \cdot \frac{P \cdot (1 - P)}{E^2}$$

Prevalenza sconosciuto

Usare $P = 0.5$ (50%)

Calcolo della Prevalenza: dimensione del campione



Misurazione classiche



Popolazione
a rischio

Casi

Morti

Morbilità

Casi

Popolazione a rischio

Mortalità

Morti

Popolazione a rischio

Letalità

Mortalità

Morbilità



Considerazioni per il calcolo

- Intervalli di confidenza (dimensione del campione)
- Impatto della precisione diagnostica
- Uso delle *pools*

Calcolo dei limiti di IC95%

Variabile qualitativa

$$p \pm 1.96 \cdot \sqrt{\frac{p \cdot (1-p)}{n}}$$

Dipendente dalle dimensioni del campione

$$\left(p - 1.96 \cdot \sqrt{\frac{p \cdot (1-p)}{n}}, p + 1.96 \cdot \sqrt{\frac{p \cdot (1-p)}{n}} \right)$$



Valori Predittivi

Valore Pred. Positivo = $P(\text{Infetti} \mid \text{Positivi})$

Gold standard

		<i>Gold standard</i>		
		Infetti	Sano	Totale
Valutato test	Positivi	Vero Positivi	Falsi Positivi	Positivi
	Negativi	Falsi Negativi	Vero Negativi	Negativi
	Totale			

↑
↓

Valore Pred. Negativo = $P(\text{Sano} \mid \text{Negativi})$

Vero prev. vs Apparente prev.

$$\text{Pr ev}_{\text{vero}} = \frac{\text{Pr ev}_{\text{app}} + \text{Sp} - 1}{\text{Se} + \text{Sp} - 1}$$

Uso delle pools: stima di prevalenza

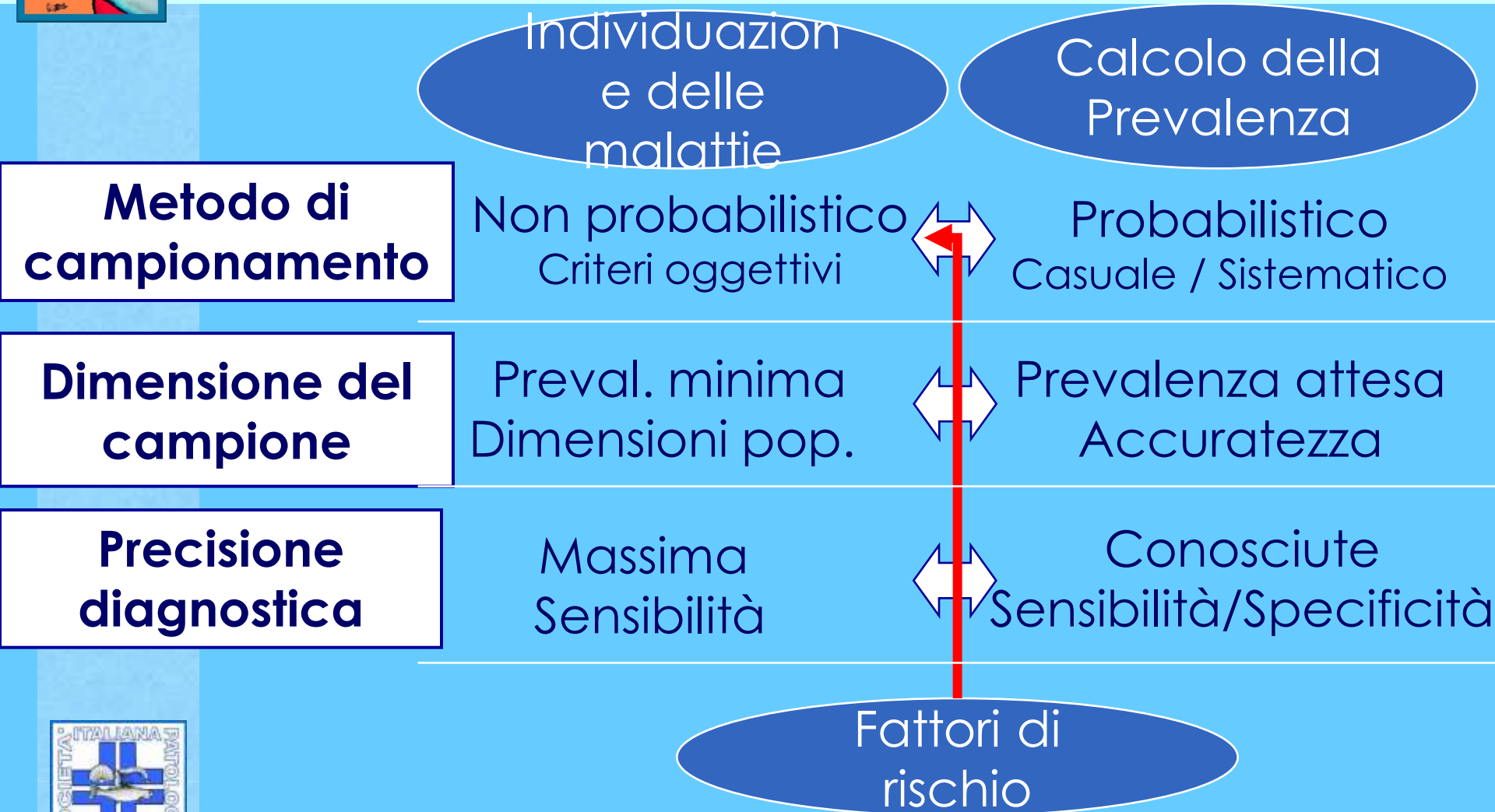
$$p = 1 - \left(1 - \frac{\text{positivi pools}}{\text{totali pools}} \right)^{1/\text{dimensione pool}}$$

Riepilogo





Differenze metodologiche



Grazie per l'attenzione

