
“A CACCIA DELL’EPATITE E”

Piano di monitoraggio del pericolo di HEV nelle filiere di carne di selvaggina cacciata



Introduzione

I virus rappresentano una delle più comuni cause di malattie trasmesse attraverso gli alimenti.

I dati epidemiologici più recenti evidenziano che nel 2019 il 10,7% di tutti i focolai di tossinfezioni alimentari sviluppatasi nell'UE sono stati causati da virus, con 12.227 casi diagnosticati e un tasso di ospedalizzazione pari al 12%. Tra i virus più coinvolti vi sono quelli responsabili di gastroenteriti, come i Norovirus (NoV) e quelli responsabili di epatiti a trasmissione oro-fecale, in particolare il virus dell'epatite A (HAV) e il virus dell'epatite E (HEV)¹.

Vengono qui riportati i dati pubblicati prima dell'insorgenza della pandemia da SARS-COV2 in quanto, a partire da Febbraio 2020, a livello europeo, si è assistito ad una generale riduzione del numero di casi di malattia correlata ad infezioni da virus. L'ultima Scientific Opinion dell'EFSA "The European Union One Health 2020 Zoonoses", pubblicata nel 2020, descrive addirittura un calo pari al 72% delle infezioni virali trasmesse attraverso gli alimenti². Risulta evidente come tale dato sia dovuto alla situazione di emergenza pandemica e quindi poco rappresentativo della reale situazione epidemiologica a livello europeo.

È, infatti, probabile che le misure di contenimento, adottate per limitare la diffusione di SARS-CoV2, abbiano in parte contribuito a diminuire anche il rischio di contrarre altre malattie virali ma, è ancor più probabile, che la flessione osservata sia invece il frutto del minor numero di diagnosi effettuate collegato, a sua volta, al minor afflusso di pazienti registrato presso le strutture Ospedaliere durante la pandemia.

Il virus dell'HEV è causa di forme di epatite infettiva, a trasmissione oro-fecale, favorite soprattutto dal consumo di carni contaminate di suino e cinghiale (prevalentemente carni poco cotte e prodotti a base di carne, quest'ultimi in particolar se a base di fegato).

Secondo quanto riportato nella Scientific Opinion dell'EFSA su "Public health risks associated with hepatitis E virus (HEV) as a food-borne pathogen", pubblicata nel 2017, il numero di casi di infezione da HEV confermati nell'uomo, in Europa, mostra un trend in crescita di 10 volte nel periodo 2005 – 2015, andando da 514 a 5.617 casi confermati³.

L'infezione da HEV nell'uomo non è soggetta a notifica obbligatoria in tutti gli Stati Membri dell'UE e i sistemi di sorveglianza differiscono da Paese a Paese. Pertanto il numero di diagnosi denunciate, oltre che essere sicuramente sottostimato, non può essere impiegato come termine di confronto tra Paesi.

In Italia la sorveglianza delle malattie infettive è affidata al Sistema Informativo delle malattie infettive (Simi) basato sulle segnalazioni dei medici che allertano il Servizio di Igiene e Sanità Pubblica (Allegato 1). Oltre al Simi, le altre componenti del sistema di sorveglianza delle malattie infettive sono i sistemi di sorveglianza speciale. Sempre in Italia, infatti, dal 2007 è possibile la notifica dei casi di epatite virale acuta tramite un sistema di sorveglianza epidemiologica integrata, virologica e ambientale, coordinato dal Centro Nazionale per la salute Globale e dal Dipartimento di malattie infettive dell'ISS (SEIEVA; Sistema Epidemiologico Integrato dell'Epatite Virale Acuta). Tale notifica, di natura volontaria, viene comunicata al SEIEVA tramite la compilazione, da parte dei medici che effettuano la diagnosi, di un'apposita scheda epidemiologica per la Sorveglianza dell'Epatite virale E (Allegato 2). Il SEIEVA consente di descrivere e monitorare l'andamento delle varie forme di epatite virale acuta, differenziate per tipo specifico, su tutto il territorio Italiano. Attraverso il SEIEVA è stato possibile documentare, negli ultimi anni, l'evoluzione dell'epidemiologia delle epatiti virali che, rispetto al passato, nel territorio dell'Italia centrale vede emergere tra tutte l'infezione da virus dell'epatite E.

Riguardo ai casi segnalati di HEV, negli anni 2007-2019, in Italia, si è assistito ad un trend in continuo aumento che ha riguardato esclusivamente i casi autoctoni, ovvero di persone che presumibilmente hanno contratto l'infezione in loco e non a seguito di viaggi all'estero, in Paesi ove

la malattia è endemica. Nel corso del 2019 si è raggiunto il picco con un numero di casi raddoppiato rispetto all'anno precedente (102 casi rispetto ai 49 nel 2018). L'incremento osservato nel 2019 sembra attribuibile soprattutto a focolai epidemici che si sono verificati nelle regioni Marche, Lazio e Abruzzo. Nel corso del 2020 sono stati segnalati 24 casi, la diminuzione è in linea con quanto visto per gli altri tipi di epatite e probabilmente correlata allo stato pandemico da Sars-Cov2. Come nel 2019, anche nel 2020 i casi di epatite E hanno superato numericamente quelli di epatite C, collocando la malattia al terzo posto tra le epatiti virali. Tutte le infezioni sono state contratte plausibilmente in Italia, dal momento che nessuno dei 24 casi riportava di aver effettuato viaggi in aree considerate endemiche. Riguardo ai fattori di rischio, quello denunciato più di frequente è il consumo di carne di maiale cruda o poco cotta, fattore rilevato dal 68,2% dei casi. La percentuale di casi che invece rimandano ad un consumo di carne di cinghiale cruda o poco cotta è del 18,2%. Quest'ultima percentuale sale al 30% se si prendono in considerazione le sole regioni Lazio e Abruzzo.

Nel 2019 la regione Umbria ha segnalato al SEIEVA, sistema di sorveglianza su base volontaria, 3 casi di epatite E. Nessun caso è stato documentato per l'anno 2020 mentre, secondo quanto registrato dal laboratorio di Biologia Molecolare e Sierologia dell'Ospedale di Perugia, nei soli primi 5 mesi del 2021 sono stati diagnosticati 4 casi di epatite E acuta che, tuttavia, non sono stati segnalati al SEIEVA. Per quanto concerne la situazione epidemiologica per i primi mesi del 2022, a Febbraio, proprio mentre le fasi del piano di monitoraggio in oggetto erano in corso, all'Ospedale Santa Maria della Misericordia di Perugia è stato diagnosticato un caso di infezione da HEV. Diagnosi confermata anche dagli esperti del Laboratorio per le Epatiti Virali e Malattie da Oncovirus e Retrovirus dell'ISS che hanno isolato il virus dai campioni di feci del paziente, identificandolo come HEV di genotipo 3F, genotipo in grado di infettare sia l'uomo che l'animale ed associato tipicamente al consumo di carne di maiale o cinghiale. Dalle informazioni ottenute tramite l'intervista condotta ai familiari è stato possibile ascrivere il paziente alla categoria di cacciatori di cinghiale. L'ipotesi di trasmissione attraverso il consumo di carne di selvaggina è in fase di accertamento nell'ambito dell'indagine epidemiologica sugli alimenti.

Analogamente, in un precedente episodio verificatosi in Umbria nel 2021, grazie all'indagine epidemiologica che ha visto il coinvolgimento dei Medici dell'Azienda Ospedaliera di Perugia, dei Veterinari della Azienda Sanitaria Locale 1 (ASL1) e del personale dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche e dell'Istituto Superiore di Sanità, è stato possibile associare un caso di infezione acuta da virus dell'Epatite E con l'avvenuto consumo di carne di cinghiale contaminata (salsicce miste di suino e cinghiale).

Scopo del progetto

Le carni di cinghiale, considerate ad oggi come un importante veicolo di infezione da HEV per l'uomo, in Umbria vengono molto spesso lavorate per la produzione di alimenti destinati all'autoconsumo nell'ambito delle organizzazioni di cacciatori che praticano tale attività venatoria. Considerato il trend in crescita della incidenza della malattia nell'uomo, è stato predisposto un piano di sorveglianza attiva, da adottare nell'arco della stagione venatoria Ottobre 2021 - Gennaio 2022 e durante la caccia di selezione praticata tra Febbraio e Marzo 2022.

Obiettivi di tale Sorveglianza Attiva sono stati i seguenti:

- Ottenere informazioni sullo stato sanitario della popolazione di cinghiali in Umbria, relativamente all'infezione da HEV e sulla salubrità delle relative carni.

- Monitorare la filiera di carni di cinghiale come fattore di rischio responsabile della trasmissione di HEV nell'uomo in Umbria.
- Aumentare la consapevolezza del consumatore nei confronti del rischio associato al consumo di carne di cinghiale.

UU.OO. coinvolte

- Regione Umbria - Servizio Prevenzione, Sanità Veterinaria e Sicurezza Alimentare
- Regione Umbria - Sezione Organizzazione Attività Venatoria
- Azienda Ospedaliera di Perugia – Microbiologia - Laboratorio di Biologia Molecolare e Sierologia
- AASSLL - Responsabili del Servizio di Igiene degli Alimenti di Origine Animale
- ISS - Laboratorio Nazionale di Riferimento (LNR) per i virus di origine alimentare
- ISS - Laboratorio per le Epatiti Virali e Malattie da Oncovirus e Retrovirus
- IZSUM – Laboratorio Biotecnologie Applicate alla Sicurezza Alimentare (S5BIOTEC)
- IZSUM – UOS VD Osservatorio Epidemiologico

Definizione del piano di monitoraggio

Sulla base dei dati ottenuti dalla consultazione del Portale dell'Osservatorio Faunistico-caccia al cinghiale - della Regione Umbria e delle informazioni disponibili in letteratura relativamente a eziopatogenesi, epidemiologia e prevalenza dell'infezione da HEV nel cinghiale, l'Osservatorio Epidemiologico dell'IZSUM ha elaborato uno specifico piano di campionamento per stratificare la raccolta dei campioni in base a:

- superficie del territorio di caccia, diviso per i 3 Ambiti Territoriali Caccia (ATC) Umbria e relativi distretti;
- numero di mesi previsti per le attività del piano di monitoraggio.

Non essendo presenti in letteratura dati specifici riguardanti la prevalenza dell'HEV nella Regione Umbria ed essendo difficile individuare una prevalenza attesa anche impiegando i dati emersi da ricerche svolte nelle regioni limitrofe, sono state avanzate delle ipotesi di campionamento, riportate nella Tabella 1, nelle quali la numerosità campionaria è stata calcolata considerando un livello di confidenza del 95% e diverse ipotesi di prevalenza e di precisione.

| Opzione | Cinghiali abbattuti stagione 2019-2020 | Prevalenza attesa | Precisione | Livello di confidenza | Numero di campioni |
|---------|--|-------------------|------------|-----------------------|--------------------|
| 1 | 19.248 | 50% | 8% | 95% | 150 |
| 2 | 19.248 | 20% | 6% | 95% | 170 |
| 3 | 19.248 | 30% | 7% | 95% | 164 |

Tabella 1: proposte di campionamento

Tra le diverse ipotesi riportate in Tabella 1 è stata scelta la seconda, che prevede un numero di campioni da prelevare pari a 170, considerando i seguenti parametri di riferimento:

- popolazione di riferimento: il numero di cinghiali abbattuti durante la stagione venatoria 2019-2020, stagione ritenuta più veritiera rispetto alla 2020-2021 (in cui le battute di caccia sono state limitate a causa della pandemia): 19.248 cinghiali;
- prevalenza attesa di Epatite E: la prevalenza di Epatite E è stata ipotizzata essere del 20%;
- precisione della stima: errore massimo tollerabile del 6%
- livello di confidenza: misura la sicurezza della stima impostato al 95%

Tale scelta è stata fatta considerando che, anche nel caso del carico di lavoro maggiore (170 campioni), sarebbe stato comunque possibile portare a termine il piano. A titolo cautelativo, è stata pertanto scelta l'ipotesi in cui la prevalenza era più bassa (20%). Tale prevalenza è, tra l'altro, in genere impiegata nei casi in cui non è conosciuta la prevalenza del fenomeno osservato.

Il numero di campioni e quindi di cinghiali da analizzare, è stato ripartito in tutta la regione nelle aree di campionamento, che corrispondono ai distretti di caccia (suddivisi a loro volta in settori di caccia), considerando la superficie di ogni distretto per distribuire in modo proporzionale i campioni da effettuare nel territorio (Figura 1).

I campioni, già stratificati in base alla superficie del distretto di caccia sono stati, per quanto possibile, distribuiti in maniera omogenea per i mesi di campionamento.

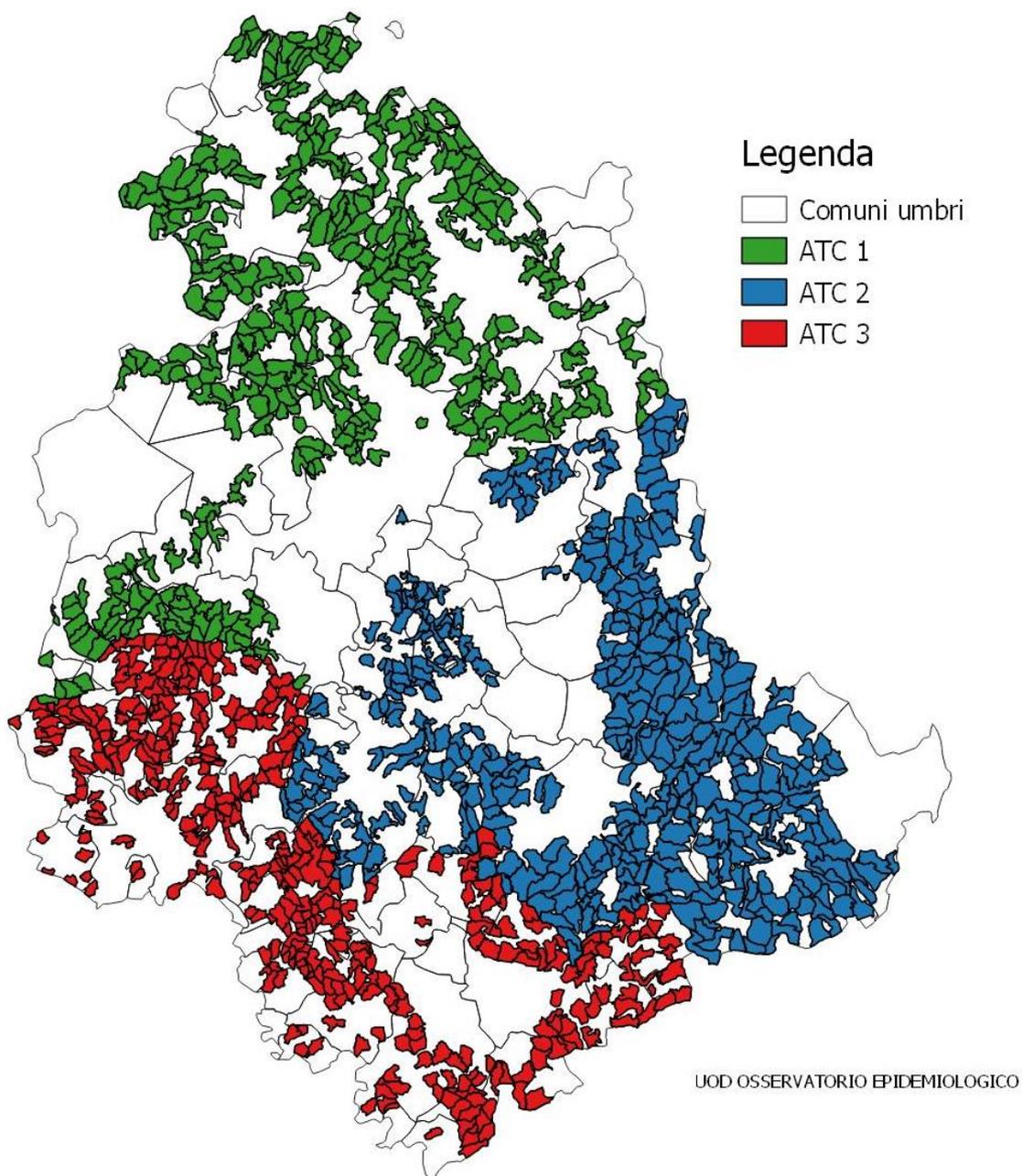


Figura 1: distretti di caccia dei 3 ATC Umbria suddivisi nei rispettivi settori di caccia

Si riporta di seguito (Tabella 2) lo schema che descrive il carico di lavoro mensile per le zone di campionamento.

| ATC | Mese | N. Campioni al mese |
|---------------|-----------------|----------------------------|
| ATC1 | Tot.ATC1 | 66 |
| | Ottobre | 19 |
| | Novembre | 21 |
| | Dicembre | 21 |
| | Gennaio | 5 |
| ATC2 | Tot.ATC2 | 49 |
| | Ottobre | 14 |
| | Novembre | 16 |
| | Dicembre | 15 |
| | Gennaio | 4 |
| ATC3 | Tot.ATC3 | 55 |
| | Ottobre | 15 |
| | Novembre | 17 |
| | Dicembre | 18 |
| | Gennaio | 5 |
| Totale | Tot. | 170 |

Tabella 2: distribuzione del numero di campioni per i 3 ATC, per mese (n.170)

Al fine di agevolare il lavoro delle varie unità coinvolte nel progetto, lo scopo del piano di monitoraggio, il piano di campionamento e le modalità di esecuzione dello stesso sono state divulgate al personale coinvolto, mediante la stesura di un'apposita brochure (Allegato 3) che è stata trasmessa dall'IZSUM alla Regione Umbria, Servizio Prevenzione, Sanità Veterinaria e Sicurezza alimentare. La Regione ha a sua volta provveduto a distribuire la brochure ai 3 ATC.

Il piano di monitoraggio regionale ha visto le squadre di cacciatori fattivamente impegnate nella sua attuazione, attraverso il prelievo del fegato degli animali abbattuti. Un contributo determinante è stato anche assicurato dal Servizio Veterinario delle AA.SS.LL. coinvolte nel progetto.

Gli esiti dei campioni positivi sono stati tempestivamente resi noti ai veterinari delle AA.SS.LL. Tutti i campioni risultati positivi sono stati inviati all'LNR per i virus di origine alimentare, presso l'ISS, per indagini filogenetiche.

Fase di campionamento

Al momento del campionamento è stato indispensabile tenere presente che la carica virale non è uniformemente distribuita a livello d'organo, pertanto, per garantire un'analisi corretta, è stato richiesto ai cacciatori e ai veterinari delle AA.SS.LL. di prelevare almeno 150 g di ciascun campione.

I campioni trasportati a temperatura controllata (+4°C) presso l'IZSUM, accompagnati dallo stesso verbale in uso per i campioni recapitati per la ricerca di Trichinella, sono stati processati immediatamente o stoccati in cella (-20°C) fino al momento dell'esecuzione delle analisi.

Le matrici rispondenti a specifici criteri di selezione (ATC e distretto di provenienza), definiti nel piano di campionamento e valutati mediante consultazione del Database dell'Osservatorio Faunistico della Regione Umbria, sono state sottoposte ad analisi.

Ad integrazione di quanto previsto nel piano, visto il conferimento di campioni in eccesso rispetto allo stesso, il Laboratorio S5BIOTEC, in accordo con l'Osservatorio Epidemiologico, ha deciso di portare il numero di campioni da analizzare a 179.

L'acquisizione del protocollo diagnostico da impiegare per l'analisi dei campioni, basato su Real-Time RT-PCR per la ricerca del genoma virale di HEV nelle matrici di interesse, è stata effettuata attraverso il supporto del LNR dei Virus di origine Alimentare dell'ISS.

Nello specifico, non esistendo un metodo di riferimento normato per la rilevazione del genoma del virus di interesse, è stato acquisito il metodo definito dal LNR e la procedura è poi stata verificata saggiando i materiali di riferimento inviatici dallo stesso LNR.

Fase analitica

Le analisi di laboratorio sono state condotte per determinare la rilevabilità o la non rilevabilità del genoma virale di HEV negli organi target (fegato).

La ricerca dell'RNA virale è stata effettuata mediante analisi molecolare articolata in 4 fasi:

Fase 1- Concentrazione del virus: le matrici analizzate mediante questa procedura sono matrici complesse nelle quali il virus può essere presente in concentrazioni basse. Risulta, perciò, necessario operare una concentrazione delle particelle virali e impiegare procedure matrice-specifiche per l'estrazione del virus.

Fase 2- Estrazione e purificazione dell'RNA virale: è necessario impiegare un metodo che consenta di ottenere un campione di RNA altamente purificato onde evitare effetti di inibizione della Real Time RT-PCR. Il capsido virale viene lisato impiegando un reagente a base di guanidina isotiocianato e, successivamente l'RNA viene adsorbito in silice e purificato mediante lavaggi in sequenza. L'RNA, così ottenuto, è quindi eluito in un buffer specifico per Real Time RT-PCR.

Fase 3- Retrotrascrizione, amplificazione e rilevazione degli acidi nucleici: l'RNA virale estratto e purificato viene retrotrascritto e amplificato mediante un'unica reazione di "One-Step Real-Time RT-PCR".

Fase 4- Analisi ed interpretazione dei risultati.

Risultati

Dai dati estrapolati dalla “Dashboard caccia al cinghiale in battuta”, del portale dell’Osservatorio Faunistico-caccia al cinghiale- della Regione Umbria, si evince che le battute di caccia effettuate nel corso della Stagione venatoria 2021-2022 sono state 5.796 e il numero di animali complessivamente abbattuti è stato 21.707 (il dato considera gli animali abbattuti nella caccia in battuta e non nella caccia di selezione).

La prevalenza di Epatite E nei cinghiali abbattuti in Umbria è risultata essere pari al 43,6% (IC95%: 36,5%-50,9%).

I cinghiali risultati positivi per Epatite E sono stati 78 su 179; il numero di campioni testati ha superato il numero di campioni previsto dal campionamento; ciò rende più solido il dato ottenuto nello studio.

La distribuzione dei campioni analizzati nel corso della stagione venatoria Ottobre 2021 – Gennaio 2022 è mostrata in Tabella 3, con il relativo esito per Epatite E.

La stima di prevalenza è stata effettuata su base regionale. La distribuzione dei campioni per distretti si è resa necessaria per consentire l’uniforme applicazione dell’indagine sull’intero territorio.

| ATC | Distretti | Negativo | | Positivo | | Totale |
|------------|-----------|----------|------|----------|-----|--------|
| | | N | % | N | % | |
| ATC 1 = 61 | D1 | 1 | 25% | 3 | 75% | 4 |
| | D2 | 4 | 67% | 2 | 33% | 6 |
| | D3 | 3 | 100% | - | 0% | 3 |
| | D4 | 3 | 75% | 1 | 25% | 4 |
| | D5 | 4 | 44% | 5 | 56% | 9 |
| | D6 | 4 | 100% | - | 0% | 4 |
| | D7 | 5 | 100% | - | 0% | 5 |
| | D8 | 1 | 25% | 3 | 75% | 4 |
| | D9 | 1 | 20% | 4 | 80% | 5 |
| | D10 | 4 | 57% | 3 | 43% | 7 |
| | D11 | 5 | 83% | 1 | 17% | 6 |
| | D12 | 1 | 50% | 1 | 50% | 2 |
| | D12 (D13) | 2 | 100% | - | 0% | 2 |
| ATC 2 = 76 | D1 | 1 | 100% | - | 0% | 1 |
| | D2 | 5 | 63% | 3 | 38% | 8 |
| | D3 | 7 | 78% | 2 | 22% | 9 |
| | D4 | 6 | 86% | 1 | 14% | 7 |
| | D5 | 4 | 100% | - | 0% | 4 |
| | D6 | 3 | 60% | 2 | 40% | 5 |
| | D7 | 4 | 40% | 6 | 60% | 10 |
| | D8 | 4 | 24% | 13 | 76% | 17 |
| ATC 3 = 42 | D9 | 4 | 27% | 11 | 73% | 15 |
| | D1 | 4 | 100% | - | 0% | 4 |
| | D2 | 2 | 50% | 2 | 50% | 4 |

| | | | | | |
|----|---|------|---|-----|---|
| D3 | 2 | 29% | 5 | 71% | 7 |
| D4 | 1 | 50% | 1 | 50% | 2 |
| D5 | 2 | 33% | 4 | 67% | 6 |
| D6 | 1 | 50% | 1 | 50% | 2 |
| D7 | 3 | 60% | 2 | 40% | 5 |
| D8 | 5 | 100% | - | 0% | 5 |
| D9 | 5 | 71% | 2 | 29% | 7 |

Tabella 3: distribuzione dei campioni per ATC/distretto ed esito Epatite E (% arrotondate)

La percentuale di positivi più alta (Tabella 4 e Figura 2) è stata riscontrata nell'ATC2 con il 50% di cinghiali risultati positivi (38/76). La stessa percentuale cala al 40% nell'ATC3 (17/42) e al 38% nell'ATC1 (23/61).

| ATC | Negativi (%riga) | Positivi (%riga) | Totale analizzati (% colonna) |
|---------------|------------------|------------------|-------------------------------|
| ATC1 | 38 (62%) | 23 (38%) | 61 (34,08%) |
| ATC2 | 38 (50%) | 38 (50%) | 76 (42,46%) |
| ATC3 | 25 (60%) | 17 (40%) | 42 (23,46%) |
| Totale | 101 (56%) | 78 (44%) | 179 |

Tabella 4: distribuzione campioni ATC ed esito Epatite E

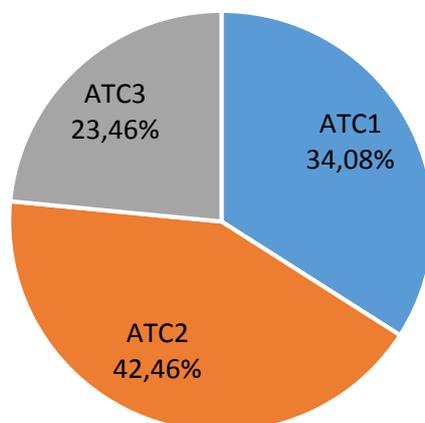


Figura 2: distribuzione percentuale dei campioni per ATC (% colonna della tabella)

Nella Figura 3 è stata riportata la mappa tematica con il numero di campioni (espresso in fasce numeriche) testati per distretto di caccia mentre nella Figura 4 la mappa tematica mette in evidenza la percentuale di campioni positivi per distretto.

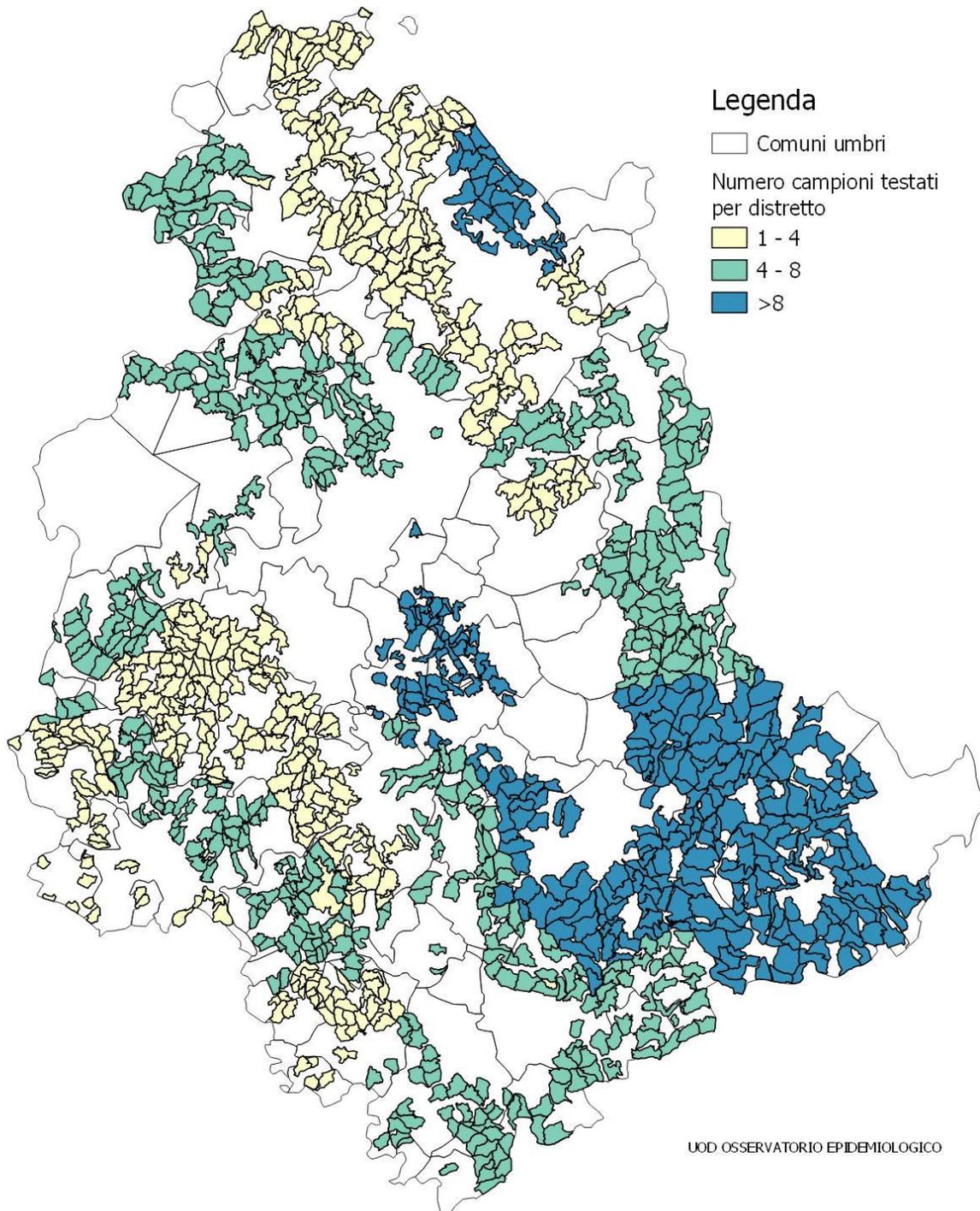


Figura 3: mappa tematica dei distretti (settori di caccia) per numero di campioni testati

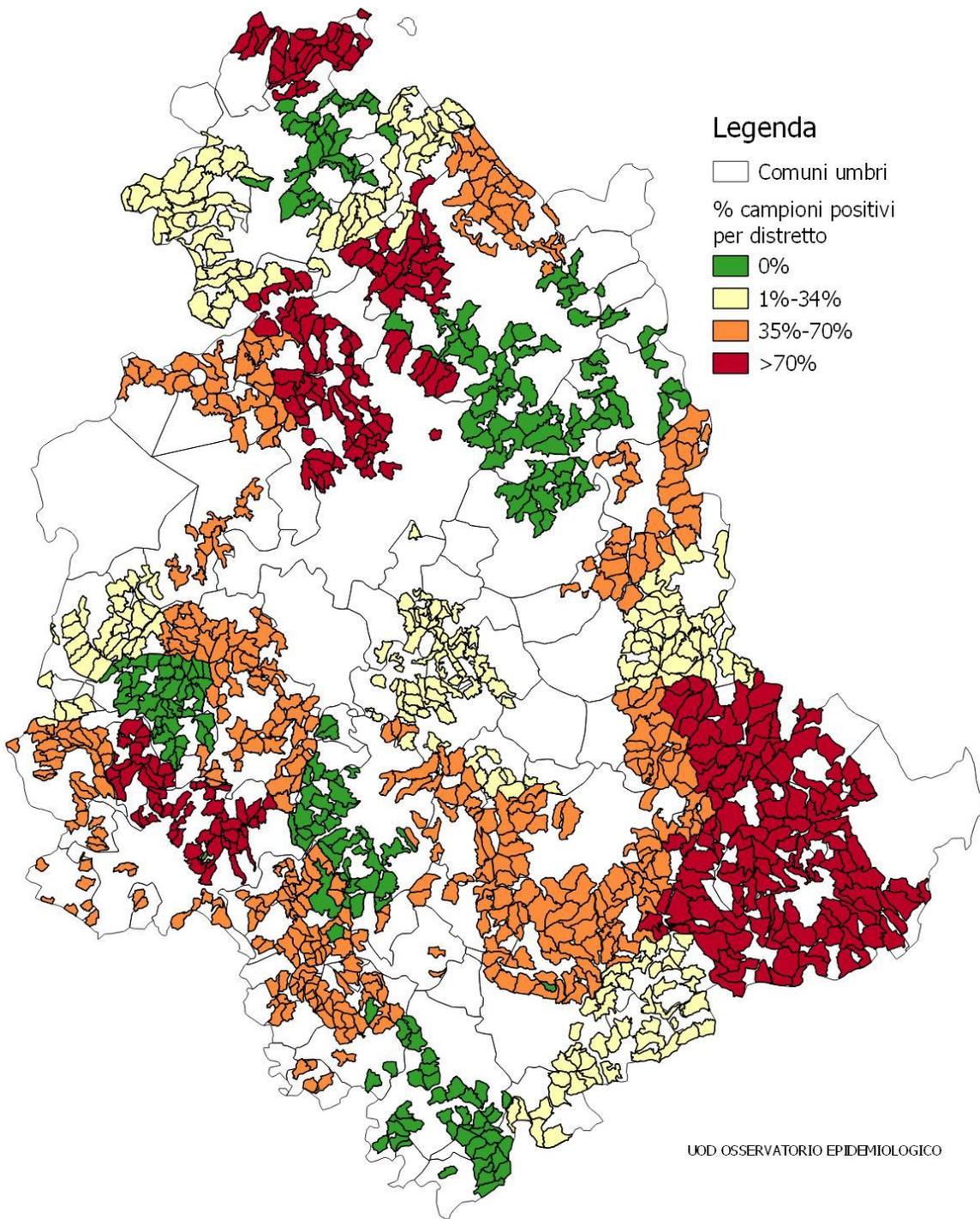


Figura 4: mappa tematica dei distretti (settori di caccia) per i campioni positivi in percentuale

Per tutti gli animali analizzati è stato possibile ottenere informazioni in merito all'ATC e al distretto di provenienza; solo per 4 campioni non è stato possibile risalire al "comune di provenienza".

La distribuzione del numero di campioni per comune e per esito Epatite E è riportata nella Tabella 5.

Nella Figura 5 sono stati rappresentati i comuni coinvolti nel campionamento con l'indicazione del numero di campioni testati per comune; nella Figura 6 sono stati messi in evidenza i comuni dove sono state riscontrate positività per Epatite E (in termini assoluti) mentre nella Figura 7 è mostrata la percentuale di positività per comune.

| Comune | Negativo | | Positivo | | Totale |
|-----------------------|----------|------|----------|------|--------|
| | N | % | N | % | |
| Acquasparta | - | 0% | 1 | 100% | 1 |
| Allerona | - | 0% | 1 | 100% | 1 |
| Amelia | - | 0% | 2 | 100% | 2 |
| Assisi | 1 | 100% | - | 0% | 1 |
| Bettona | 4 | 100% | - | 0% | 4 |
| Cascia | 2 | 100% | - | 0% | 2 |
| Castiglione Del Lago | 3 | 100% | - | 0% | 3 |
| Citerna | 1 | 100% | - | 0% | 1 |
| Città Della Pieve | 3 | 75% | 1 | 25% | 4 |
| Città Di Castello | 9 | 69% | 4 | 31% | 13 |
| Collazzone | 1 | 100% | - | 0% | 1 |
| Fabro | - | 0% | 1 | 100% | 1 |
| Ferentillo | 1 | 50% | 1 | 50% | 2 |
| Ficulle | - | 0% | 1 | 100% | 1 |
| Foligno | 8 | 67% | 4 | 33% | 12 |
| Fossato Di Vico | 1 | 100% | - | 0% | 1 |
| Giano Dell'Umbria | - | 0% | 1 | 100% | 1 |
| Gualdo Cattaneo | 3 | 100% | - | 0% | 3 |
| Gualdo Tadino | 3 | 100% | - | 0% | 3 |
| Guarda | 2 | 100% | - | 0% | 2 |
| Gubbio | 8 | 57% | 6 | 43% | 14 |
| Lugnano In Teverina | 1 | 100% | - | 0% | 1 |
| Magione | - | 0% | 1 | 100% | 1 |
| Massa Martana | 1 | 100% | - | 0% | 1 |
| Monte Gabbione | - | 0% | 1 | 100% | 1 |
| Monte Leone D'orvieto | 1 | 100% | - | 0% | 1 |
| Montecastrilli | - | 0% | 1 | 100% | 1 |
| Montecchio | - | 0% | 4 | 100% | 4 |
| Montefranco | 1 | 50% | 1 | 50% | 2 |
| Narni | 1 | 100% | - | 0% | 1 |
| Nocera Umbra | - | 0% | 2 | 100% | 2 |
| Orvieto | 4 | 57% | 3 | 43% | 7 |
| Otricoli | 1 | 100% | - | 0% | 1 |

| Comune | Negativo | | Positivo | | Totale |
|--------------------------|------------|------------|-----------|------------|------------|
| | N | % | N | % | |
| Parrano | 1 | 100% | - | 0% | 1 |
| Passignano Sul Trasimeno | - | 0% | 1 | 100% | 1 |
| Perugia | 3 | 43% | 4 | 57% | 7 |
| Piegaro | 1 | 100% | - | 0% | 1 |
| Pietralunga | 2 | 67% | 1 | 33% | 3 |
| Polino | 1 | 100% | - | 0% | 1 |
| San Giustino | - | 0% | 1 | 100% | 1 |
| San Venanzo | - | 0% | 1 | 100% | 1 |
| Sellano | - | 0% | 7 | 100% | 7 |
| Spello | 2 | 100% | - | 0% | 2 |
| Spoletto | 9 | 29% | 22 | 71% | 31 |
| Stroncone | 2 | 100% | - | 0% | 2 |
| Terni | 7 | 100% | - | 0% | 7 |
| Todi | 6 | 75% | 2 | 25% | 8 |
| Tuoro Sul Trasimeno | 1 | 100% | - | 0% | 1 |
| Umbertide | 2 | 67% | 1 | 33% | 3 |
| Valtopina | 2 | 100% | - | 0% | 2 |
| Non Indicato | 2 | 50% | 2 | 50% | 4 |
| Totale | 101 | 56% | 78 | 44% | 179 |

Tabella 5: distribuzione dei campioni per comune e per esito Epatite E

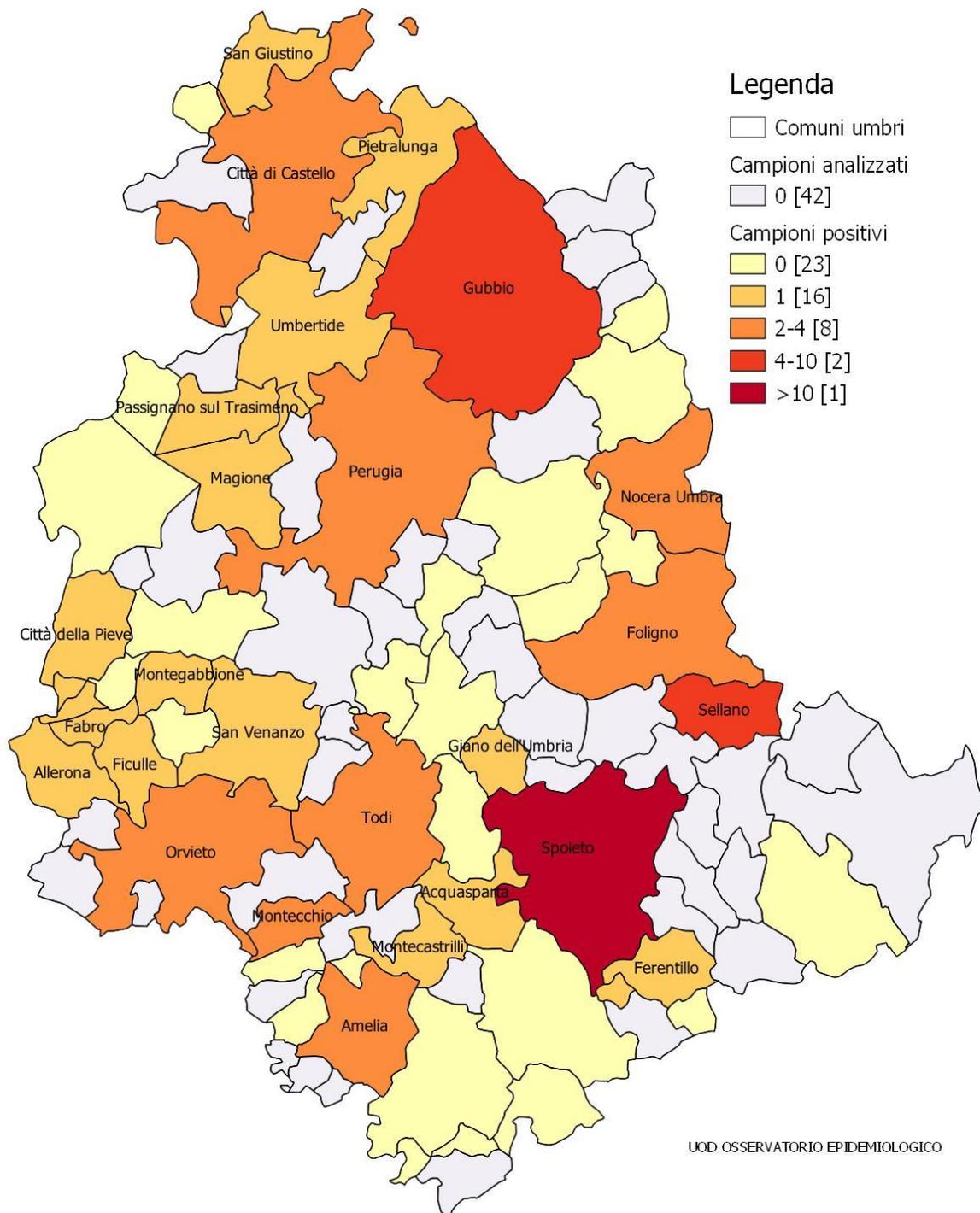


Figura 6: mappa tematica dei comuni per il numero di cinghiali positivi per Epatite E

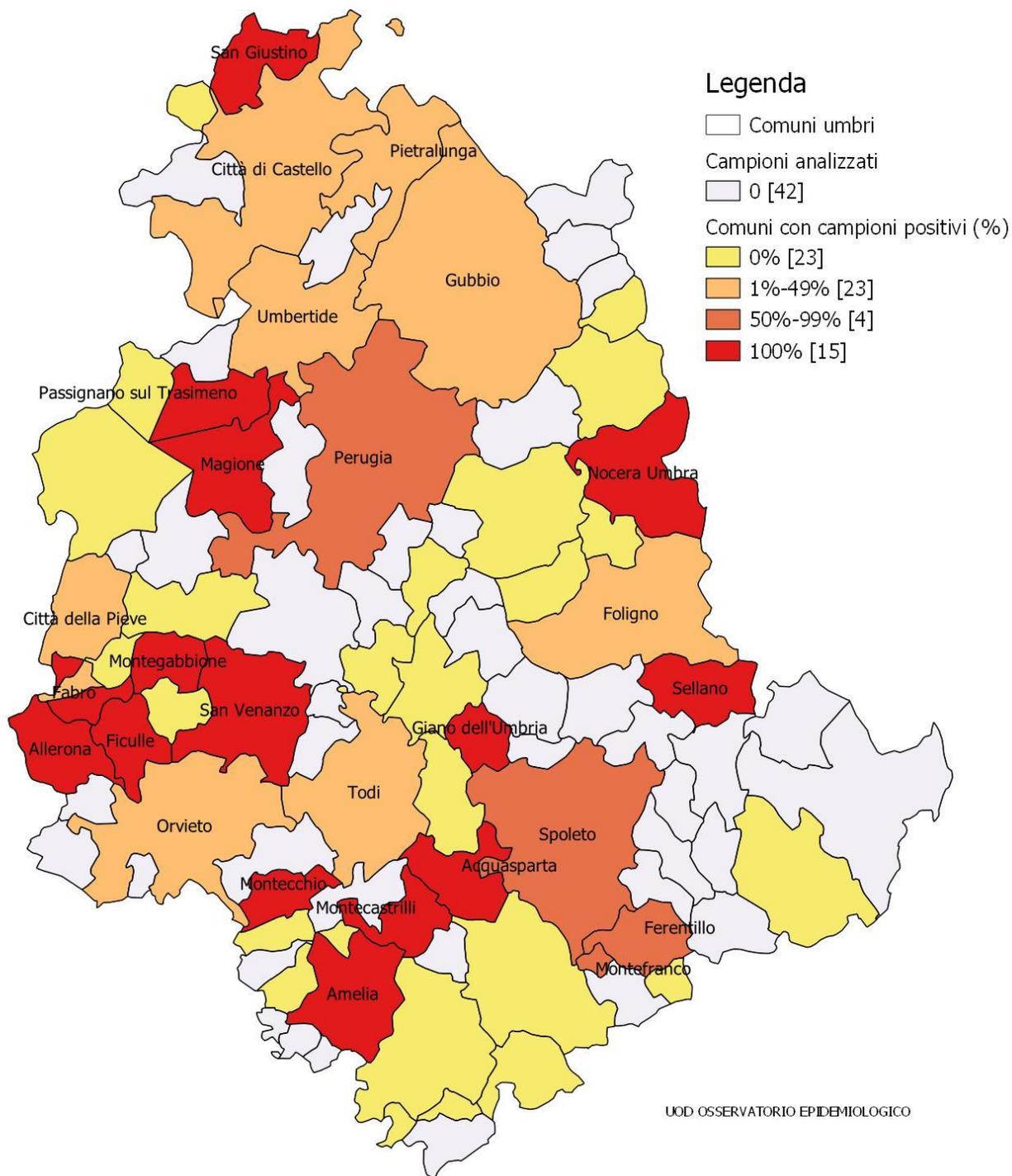


Figura 7: mappa tematica dei comuni con la percentuale dei cinghiali positivi per Epatite E

Per la maggior parte degli animali (64%= 114/179) è stato specificato il sesso; i cinghiali analizzati erano soprattutto di sesso maschile (37,43%= 67/179; Figura 8) ed anche il maggior

numero di positivi è stato riscontrato nei maschi (52%=35/67) rispetto alle femmine (40%= 19/47) pur non emergendo, tra i due sessi, differenze statisticamente significative ($p=0,2443$). La distribuzione dei campioni per sesso dell'animale ed esito di laboratorio è stata inserita nella Tabella 6 e Figura 9.

| Sesso | Negativo (% riga) | Positivo (% riga) | Totale analizzati (% colonna) |
|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------------------|
| Femmina | 28 (60%) | 19 (40%) | 47 (26,26%) |
| Maschio | 32 (48%) | 35 (52%) | 67 (37,43%) |
| Non indicato | 41 (63%) | 24 (37%) | 65 (36,31%) |
| Totale | 101 | 78 | 179 |

Tabella 6: distribuzione campioni per sesso animale ed esito

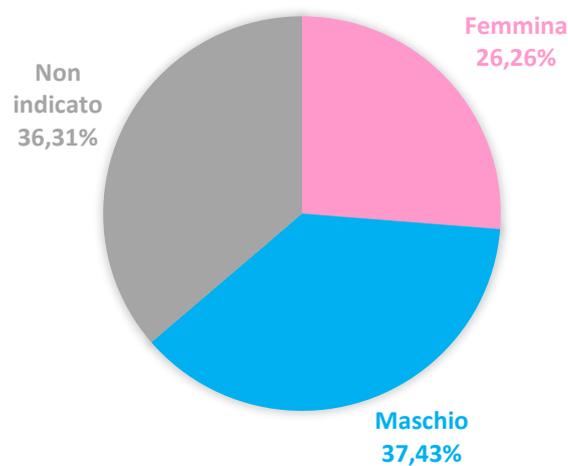


Figura 8: distribuzione percentuale campioni per sesso animale (% colonna)

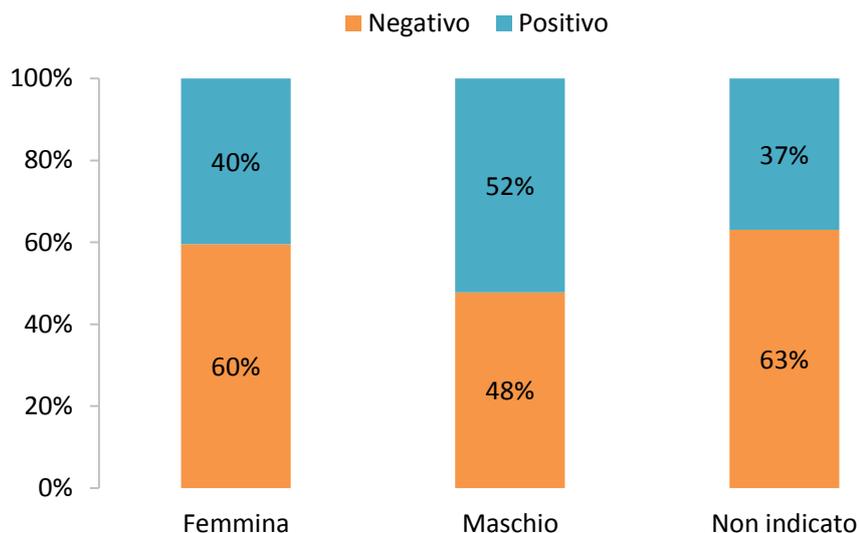


Figura 9: distribuzione percentuale campioni per sesso animale ed esito (% riga)

Per quanto riguarda il parametro “peso dell’animale”, questo è stato categorizzato in due classi (≤ 50 kg e > 50 kg) tenendo conto, però, del fatto che per il 38% (n. 68) dei capi tale dato non è stato dichiarato dai cacciatori (Tabella 7 e Figura 10). Il 42% (76/179) dei capi aveva un peso superiore ai 50 kg. Di questi il 46% (35/76) è risultato positivo; percentuale quasi identica ottenuta dall’analisi degli animali con peso inferiore ai 50 kg (49%: 17/35) e, infatti, nessuna differenza statisticamente significativa è emersa prendendo in considerazione il parametro peso ($p=0,9221$). La Tabella 7 e la Figura 11 mostrano la distribuzione dei campioni per peso dell’animale e relativo esito di laboratorio.

| Peso | Negativo (% riga) | Positivo (% riga) | Totale analizzati (% colonna) |
|---------------|-------------------|-------------------|-------------------------------|
| ≤ 50 kg | 18 (51%) | 17 (49%) | 35 (20%) |
| > 50 kg | 41 (54%) | 35 (46%) | 76 (42%) |
| Non indicato | 42 (62%) | 26 (38%) | 68 (38%) |
| Totale | 101 | 78 | 179 |

Tabella 7: distribuzione campioni per peso animale ed esito

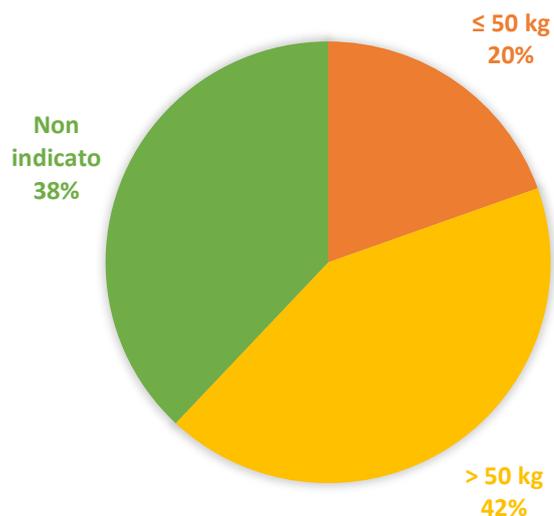


Figura 10: distribuzione percentuale campioni per peso animale (% colonna)

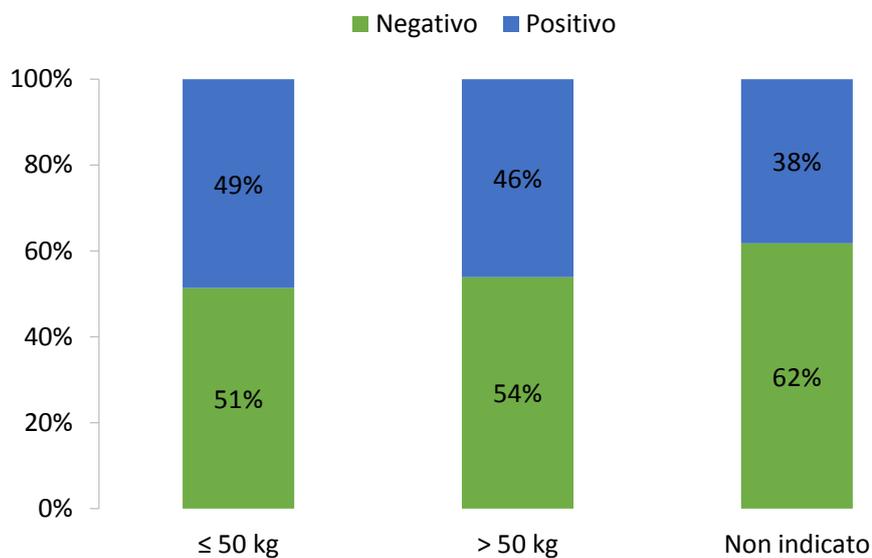


Figura 11: distribuzione percentuale campioni per peso animale ed esito (% riga)

Infine, gli animali sono stati categorizzati in base alle fasce di età, definite in base alla tavola di eruzione dentaria.

Gli animali appartenenti alla fascia di età D (>23 mesi) sono quelli che sono stati rinvenuti in percentuale maggiore (28%: 51/179) mentre solo un 2% degli animali apparteneva alla fascia di età più giovane (0-3mesi). Per quasi il 50% dei campioni non è stata indicata la fascia di età dell'animale (Tabella 8 e Figura 12).

Il gruppo di età B (4-12 mesi) è la classe di età risultata maggiormente interessata dal fenomeno Epatite E, con una percentuale del 59% di animali positivi (Tabella 8 e Figura 13).

| Età | Negativo (% riga) | Positivo (% riga) | Totale (% colonna) |
|-------------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
| A (0-3 mesi) | 2 (50%) | 2 (50%) | 4 (2,2%) |
| B (4 -12 mesi) | 7 (41%) | 10 (59%) | 17 (9,5%) |
| C (13 – 22 mesi) | 15 (62,5%) | 9 (37,5%) | 24 (13,4%) |
| D (da 23 mesi) | 29 (57%) | 22 (43%) | 51 (28,5%) |
| Non indicato | 48 (57%) | 35 (43%) | 83 (46,4%) |
| Totale | 101 | 78 | 179 |

Tabella 8: distribuzione campioni per età animale ed esito

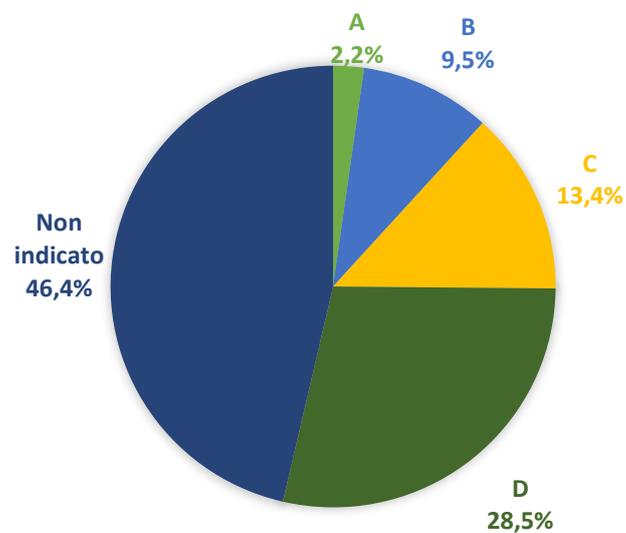


Figura 12: distribuzione percentuale campioni per età animale (% colonna)

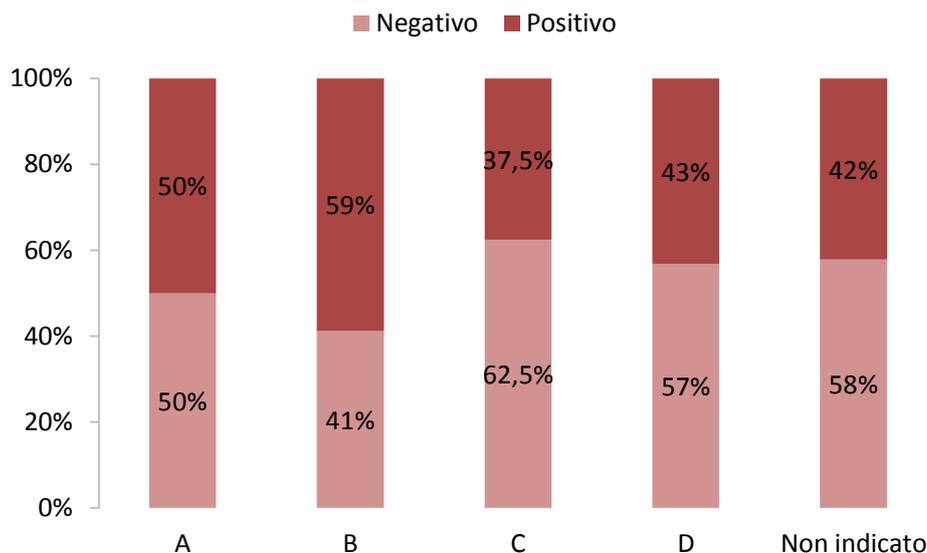


Figura 13: distribuzione percentuale campioni per età animale ed esito (% riga)

E' stata poi verificata l'eventuale associazione tra l'età e la presenza di Epatite E nei cinghiali. E' stato effettuato il confronto tra il gruppo C, il gruppo considerato meno rischioso considerando la percentuale di positività riscontrata, rispetto agli altri gruppi: gruppo A ($p=0,6356$), gruppo B ($p=0,1774$), gruppo D ($p=0,6437$). Tutte le associazioni sono risultate non significative quindi, dallo studio, non si evince che ci sia una categoria di età più a rischio.

Per 22 animali dei 78 risultati positivi è stato possibile sottoporre a campionamento ed analisi anche le carni da essi derivate e da destinarsi al consumo per alimentazione umana. Nel 41% dei casi (n.9/22) è stata riscontrata una contaminazione da genoma del virus dell'Epatite E.

Conclusioni

Il piano di sorveglianza ha permesso di collezionare dati importanti riguardo la circolazione di HEV sul territorio Umbro. Sulla base delle informazioni dedotte dal presente studio ed in relazione sia all'aumento delle infezioni autoctone registrate nell'ultimo biennio che al ruolo che gli alimenti hanno avuto nella trasmissione del virus, almeno nei casi accertati, si può concludere che l'epatite E va considerata, a tutti gli effetti, come un problema di sanità pubblica emergente su tutto il territorio regionale.

Tali risultati sottolineano la necessità di rafforzare, a livello regionale, le attività di prevenzione, intensificando le azioni di monitoraggio delle infezioni zoonosiche virali a trasmissione alimentare e attuando piani di sorveglianza mirati ed estesi a tutta la filiera produttiva agroalimentare, compreso il settore della selvaggina cacciata.

L'opera di sensibilizzazione delle categorie coinvolte nella filiera della carne di selvaggina cacciata, dai cacciatori ai ristoratori, rispetto al rischio epatite virale di tipo E, fatta anche attraverso la divulgazione di informazioni specifiche rispetto alle norme di igiene e di manipolazione di tali matrici alimentari, costituirà un'attività di notevole importanza ai fini della riduzione dei tassi di incidenza della malattia.

In ultimo, prendendo ad esempio quanto successo ad Aprile 2021, quando grazie alla tempestiva segnalazione di un caso di Epatite E, effettuata dai medici dell’Ospedale Santa Maria della Misericordia di Perugia, è scattata un’indagine epidemiologica che ha portato al recupero delle matrici alimentari contaminate, si ribadisce l’importanza della stretta collaborazione tra gli Ospedali, le AA.SS.LL., i Servizi della Regione Umbria ed i Laboratori di analisi per il continuo scambio di dati ed informazioni al fine della rapida individuazione di nuovi potenziali focolai di infezione.

Prospettive future

Come illustrato nei risultati, per 22 animali, dei 78 risultati positivi, è stato possibile sottoporre a campionamento ed analisi anche le carni da essi derivate e destinate al consumo. Di questi 22 campioni, 9 sono risultati positivi alla presenza di genoma di HEV. Le ipotesi che possano giustificare tali positività del muscolo sono da ricondurre ad una contaminazione che si sia verificata durante le pratiche di eviscerazione e sezionamento dell’animale abbattuto, oppure alla localizzazione del virus in sede extraepatica nell’animale in vita, in concomitanza a fasi viremiche.

A fronte del basso numero di campioni analizzati, l’elevata percentuale (41%) di campioni di muscolo risultati contaminati, sottolinea l’esistenza per il consumatore di un rischio reale di trasmissione dell’HEV attraverso la manipolazione e il consumo di questi alimenti.

Aspetti di sicuro interesse su cui procedere ad approfondimenti futuri sono relativi al grado di coinvolgimento della carne (muscolo) nella contaminazione da HEV ed il livello di correlazione di questa con la contaminazione del fegato, il ruolo che la stagionatura dei prodotti a base di carne può giocare nell’abbattimento della dose infettante.

Bibliografia

- 1) EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control), 2021. The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. EFSA Journal 2021;19(2):6406.
- 2) EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control), 2021. The European Union One Health 2020 Zoonoses Report. EFSA Journal 2021;19(12):6971.
- 3) Public health risks associated with hepatitis E virus (HEV) as a food-borne pathogen. EFSA Journal 2017;15(7):4886.