

## STRUMENTI PER LA CONDUZIONE DELL'INDAGINE EPIDEMIOLOGICA

### **Epidemiologia descrittiva**

La descrizione accurata dell'epidemia costituisce il primo importante passo dell'indagine epidemiologica. L'epidemiologia descrittiva fornisce l'immagine dell'episodio inquadrandolo secondo le tre dimensioni standard (tempo, luogo e persona). Questo può bastare per indirizzare le misure immediate di controllo, sviluppare ipotesi sulla sorgente di infezione e sulle modalità di trasmissione, suggerire campionamenti alimentari e ambientali, guidare ulteriori approfondimenti.

Gli stadi di uno studio descrittivo includono:

- la scelta di una definizione di caso;
- la identificazione dei casi e la raccolta di informazioni;
- analizzare i dati inquadrandoli per tempo, luoghi e persone;
- stabilire i soggetti a rischio;
- sviluppare ipotesi sull'esposizione e sui veicoli;
- confrontare le ipotesi con i fatti accertati;
- decidere se sono necessari studi analitici.

### **Scelta della definizione di caso**

La definizione di caso consiste in una serie di criteri in base ai quali si stabilisce se una persona deve essere classificata come affetta della malattia oggetto di studio.

Si tratta di uno strumento epidemiologico per contare i casi che non comporta alcuna conseguenza sul piano clinico.

La definizione di caso deve essere semplice e pratica e includere quattro componenti:

- criteri clinici e di laboratorio per valutare se una persona è malata; i criteri clinici devono essere rilevanti;
- un periodo di tempo determinato durante il quale i casi possono essere considerati come associati all'episodio;
- restrizioni di spazio (ad esempio i clienti di un certo ristorante, i lavoratori di una certa fabbrica, i residenti di una certa città, ecc.);
- restrizioni di persona (ad esempio persone oltre un anno di età, persone che non hanno avuto un episodio diarroico recente, ecc.).

Idealmente una definizione di caso dovrebbe includere tutti i casi (alta sensibilità) ed escludere tutti quelli che non sono malati (alta specificità). Una definizione di caso molto sensibile può identificare molti casi ma classificare come casi anche soggetti che non sono malati. Una definizione più specifica e probabile che includa solo persone realmente malate ma che perda anche alcuni casi reali.

Non ci sono regole per decidere il giusto livello di sensibilità e specificità. Negli stadi precoci dello studio di un'epidemia solitamente è necessario identificare quanti più casi possibile; questo può essere ottenuto tramite una definizione di caso molto sensibile. In uno stadio successivo le caratteristiche cliniche spesso si chiariscono e la diagnosi è confermata da dati di laboratorio. Questo consente di adottare una definizione di caso più specifica da utilizzare in studi analitici successivi. Ovviamente i criteri utilizzati nella definizione di caso non possono essere utilizzati come fattori di rischio nella conduzione degli studi analitici.

Siccome difficilmente una singola definizione di caso può soddisfare tutti i bisogni e piuttosto comune adottare definizioni di caso differenti durante le varie fasi dell'indagine e di utilizzare definizioni di caso diverse per diversi scopi.

Ad esempio è comune l'uso simultaneo delle seguenti definizioni di caso:

- Caso confermato: quando esistono risultati di laboratorio attendibili (isolamento dell'agente o test sierologico). Si tratta di una definizione molto specifica.
- Caso probabile: quando sono presenti le caratteristiche cliniche tipiche ma non esiste la conferma di laboratorio.
- Caso possibile: basato su poche caratteristiche cliniche. Si tratta di una definizione molto sensibile.

### **Identificazione dei casi**

Il caso che giungono spontaneamente all'osservazione spesso rappresentano solo una piccola parte dei soggetti coinvolti. Per identificare il numero totale dei soggetti colpiti e la popolazione a rischio occorre ricercare i casi in modo più attivo.

I metodi variano da situazione a situazione. Ad esempio in molti casi il gruppo di persone interessate è facilmente identificabile (ad esempio i partecipanti ad una festa o a un banchetto). In altri casi, specialmente quando la malattia

ha un'incubazione lunga e/o sintomi sfumati, la ricerca dei casi può essere complicata. Ad esempio si può contattare direttamente i medici, gli ospedali, i laboratori, le scuole, ecc.

In qualche caso è opportuno allertare direttamente il pubblico attraverso i mezzi di comunicazione (ad esempio in caso di contaminazione di un prodotto commerciale) invitando le persone a rivolgersi al proprio medico curante.

Altre volte si può ricorrere ai casi stessi e alle loro conoscenze. Quando l'epidemia interessa una popolazione limitata (una scuola, una fabbrica) si possono intervistare tutti i soggetti appartenenti alla popolazione.

Una ulteriore fonte di informazione sono i laboratori di analisi cliniche quando l'agente implicato è noto. L'associazione con l'epidemia può essere confermata attraverso la tipizzazione dell'agente e questo è di particolare importanza nel caso di alimenti distribuiti in vaste aree geografiche.

### **Intervista dei casi**

Una volta identificati i casi la raccolta delle informazioni avviene tramite l'uso di questionari. I questionari possono essere somministrati da un intervistatore (direttamente o telefonicamente) oppure auto-compilati. Talvolta i casi non possono essere intervistati direttamente e si ricorre all'intervista di famigliari e, in questo caso, opportuno annotare la fonte dell'intervista.

Indipendentemente dalla malattia indagata dovrebbero essere raccolte le seguenti informazioni:

Informazioni identificative: nome, indirizzo, numero telefonico, per contattare il paziente in caso di domande aggiuntive. In questo caso è ovviamente necessario trattare queste informazioni in modo confidenziale

Informazioni demografiche: età, sesso, razza, nazionalità, occupazione, residenza, ecc. per consentire l'inquadramento epidemiologico delle persone  
Informazioni cliniche: per identificare i casi e verificare il rispetto della definizione di caso.

Informazioni sui fattori di rischio: per consentire l'identificazione della sorgente e dei veicoli dell'episodio. Le specifiche informazioni variano a seconda dell'epidemia e riguardando sia i rischi legati all'alimento che quelli legati alle persone.

A seconda della eziologia sospettata e della disponibilità e caratteristiche dei consumi locali, è importante raccogliere informazioni su tutti gli alimenti potenzialmente implicati. È importante ricostruire i consumi per tutto il periodo di incubazione sospettato (che spesso precede di 3-5 giorni l'insorgenza dei sintomi). Per completezza è bene prevedere sia elenchi definiti di alimenti che domande aperte. Occorre domandare anche il numero e la dimensione dei pasti e la provenienza e la manipolazione dei cibi.

Se è noto il patogeno implicato possono essere raccolte informazioni specifiche sui fattori di rischio associati a quel patogeno. La conoscenza del tempo di incubazione può facilitare la identificazione del periodo di esposizione più probabile e identificare fattori insoliti o sospetti.

Se il patogeno è sconosciuto ma le caratteristiche cliniche depongono per un breve periodo di incubazione è opportuno limitare a 72 ore il periodo di tempo entro cui raccogliere informazioni.

Difficilmente le persone ricordano dettagli dei cibi consumati oltre le 72 ore e spesso un calendario, il menu del pasto o una lista di alimenti possono aiutare il ricordo.

In epidemia di più lunga durata (con incubazione probabile superiore alle 72 ore) o quando le persone non ricordano i cibi consumati, possibile raccogliere informazioni sui cibi preferiti, sulle abitudini alimentari o sugli alimenti acquistati in quel periodo.

### **Analisi dei dati**

#### **Caratteristiche cliniche**

Occorre calcolare la percentuale dei casi che presentano i vari sintomi e sistamarli in una tabella in ordine decrescente. Questo semplice accorgimento può aiutare a comprendere se un episodio è stato causato da intossicazione, da un'infezione intestinale oppure da una malattia generale.

Per esempio:

- se il sintomo predominante è il vomito senza diarrea e il periodo di incubazione è breve (meno di 8 ore) è probabile si tratti di una intossicazione da *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* o *Bacillus cereus*;
- Febbre senza vomito e incubazione superiore a 18 ore indicano una infezione intestinale da *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* o *Yersinia*.

#### **Luogo**

La descrizione dei luoghi interessati dall'epidemia serve a valutarne l'estensione geografica e può rivelare caratteristiche e aggregati utili a identificarne le cause. Il modo più semplice per descrivere i luoghi è quello di disegnare delle mappe (puntuali o di area) che possono essere costruite anche manualmente in modo molto semplice.

Nelle mappe puntuali si indicano su una cartina con un puntino i luoghi dove i soggetti vivono, lavorano e dove possono essere stati esposti. In questo modo possono essere identificate aggregazioni in vicinanza di luoghi di possibile contaminazione (un ristorante, un negozio) oppure la diffusione geografica dei casi può essere identificativa di una fonte comune (tutti i casi in una sola comunità) oppure di una fonte di contaminazione diffusa.

In caso di epidemie di grandi dimensioni, che interessano zone a diversa densità di popolazione bisogna ricorrere a rappresentazioni di area con l'indicazione dei tassi di attacco anziché del numero assoluto di casi.

### Tempo

L'andamento nel tempo di un'epidemia è normalmente illustrato attraverso un istogramma in cui il numero di casi è rappresentato sull'asse y e la data di insorgenza dei sintomi sull'asse x.

Il grafico, denominato "curva epidemica", può aiutare:

- nel confermare l'esistenza di una epidemia;
- prevedere la futura evoluzione dell'epidemia;
- identificare le modalità di trasmissione;
- determinare il possibile periodo di esposizione e/o di incubazione della malattia in esame;
- identificare i casi con insorgenza dei sintomi al di fuori del corpo della curva il che può fornire importanti indicazioni sulla fonte o sul caso/indice.

Per costruire una curva epidemica è necessario conoscere il momento dell'insorgenza dei sintomi. Nel caso di patologie a lungo periodo di incubazione è sufficiente conoscere il giorno di insorgenza mentre, in patologie a corta incubazione, come la maggior parte delle malattie trasmesse da alimenti, si devono annotare giorno e ora.

L'unità di tempo da inserire nelle ascisse è normalmente basata sul periodo di incubazione apparente della malattia e deve essere preso in considerazione tutto il periodo che va dal primo all'ultimo caso.

Come regola generale, l'unità riportata sulle ascisse non dovrebbe essere superiore a un quarto del periodo di incubazione della malattia indagata (questa regola non è applicabile quando il focolaio si estende in un periodo di tempo molto lungo).

Così, per un focolaio di salmonellosi con un periodo d'incubazione medio di 24 ore e casi occorsi in pochi giorni, l'unità di misura appropriata sulle ascisse risulta essere 6 ore.

Se la malattia e/o il suo tempo di incubazione sono sconosciuti sarà necessario costruire più curve epidemiche con diverse unità sulle ascisse fino ad arrivare alla costruzione della curva che meglio rappresenta l'episodio. Sul grafico dovrebbe essere considerato anche il periodo pre-epidemico per meglio rappresentare gli antefatti del numero atteso di casi o individuare il caso indice.

Se il focolaio ha una fonte conosciuta (es. uno specifico alimento servito durante un evento comune come un pasto al ristorante etc.) nella curva deve essere indicato anche l'evento a cui si fa riferimento.

L'aspetto di una curva epidemica è determinato da:

- il modello epidemico (fonte comune a sorgente puntiforme, intermittente continua o trasmissione interumana);
- il periodo di tempo entro il quale le persone hanno subito l'esposizione;
- il periodo di incubazione della malattia.

Nei **Focolai con fonte comune** la fonte di esposizione può essere in un unico momento temporale (*sorgente puntiforme*), in momenti ricorrenti (*fonte comune intermittente*), o in un periodo continuo di tempo (*fonte comune continua*).

In caso di *Sorgente puntiforme* la curva si presenta con una rapida salita e una discesa più graduale con una ampiezza corrispondente approssimativamente al periodo di incubazione della malattia rappresentata.

In caso di *Sorgente comune intermittente e continua*, se la fonte del patogeno è unica, ma l'esposizione non è confinata ad un preciso e breve momento temporale e perdura nel tempo, si può avere una curva intermittente o continua.

In entrambi i casi l'insorgenza è comunque brusca ma i casi saranno distribuiti in un lungo periodo di tempo, maggiore del periodo di incubazione, a seconda di quanto a lungo perdura l'esposizione.

Nei **Focolai a Trasmissione interumana** la curva epidemica propagata e causata dal passaggio del patogeno da una persona suscettibile ad un'altra. La trasmissione si verifica direttamente (da persona a persona) o attraverso un ospite intermedio.

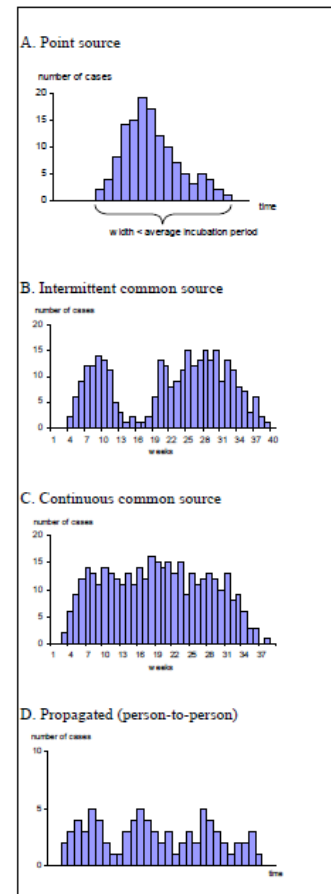


Figura 1: esempi dei diversi tipi di curva epidemica

Questo tipo di curva è caratterizzata da una serie di picchi irregolari che corrispondono ognuno al nuovo gruppo di persone infettate. Il tempo intercorso tra un picco e l'altro corrisponde approssimativamente al periodo d'incubazione del patogeno.

In caso di **Curva epidemica mista** la curva ha, nella prima parte, la caratteristica della sorgente puntiforme e quindi del contagio interumano con casi singoli diluiti nel tempo successivo alla caduta del picco. Molti patogeni alimentari come Norovirus, Virus dell'epatite A, *Shigella* ed *Escherichia coli* mostrano comunemente questo tipo di andamento. Alcuni esempi delle diverse tipologie di curva epidemica sono illustrati nella figura 1.

### Calcolo del tempo di incubazione

Il periodo di incubazione è l'intervallo di tempo intercorso tra l'ingestione dell'alimento contaminato contenente una quantità di patogeni o tossine sufficienti a causare malattia e il primo sintomo della malattia stessa. Il periodo di incubazione varierà a seconda delle risposte personali e a seconda della diversa quantità di patogeni o tossine ingerite e della loro distribuzione nell'alimento.

È meglio caratterizzare il focolaio usando la **mediana** del periodo di incubazione. Al contrario della media la mediana è la misura del valore centrale e non è quindi influenzata dai casi che presentano periodi di incubazione molto lunghi o molto corti.

Se **il momento dell'esposizione e il momento dell'insorgenza dei sintomi sono noti**, i periodi di incubazione individuali possono essere calcolati direttamente e sintetizzati nel valore della mediana.

Se **si conosce solo il momento di insorgenza dei sintomi**:

- costruire la curva epidemica;
- identificare la mediana del momento di insorgenza dei sintomi;
- calcolare l'intervallo di tempo intercorso tra il primo e l'ultimo caso (base del grafico);
- tornare indietro di questo lasso di tempo dalla mediana per ottenere il momento della probabile esposizione.

Le modalità sono illustrate nella figura 2

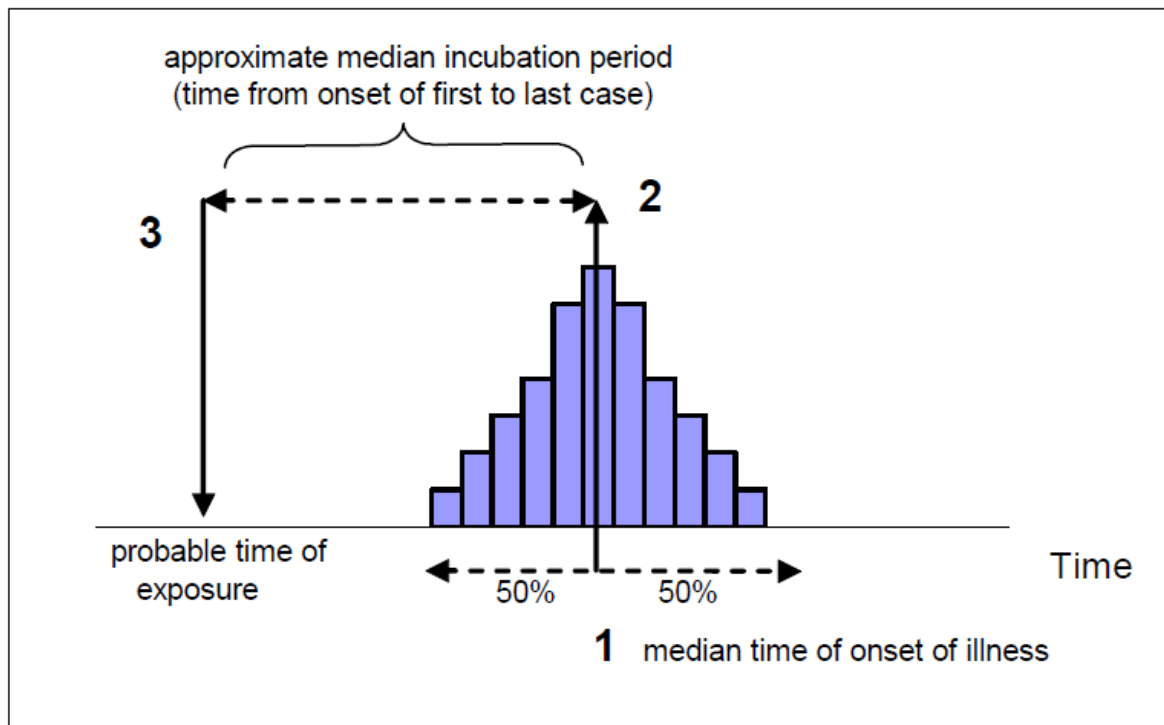


Figura 2: Determinazione del tempo di incubazione mediano e del probabile tempo di esposizione in una epidemia a sorgente puntiforme

Se **si conoscono l'organismo e il momento di insorgenza della malattia**

- considerare il tempo minimo e massimo di incubazione (es: Salmonellosi periodo di incubazione min 6 - max 48 ore);
- identificare l'ultimo caso del focolaio e contare all'indietro sull'asse X il tempo massimo di incubazione;
- identificare il primo caso dell'epidemia e contare all'indietro sull'asse X il tempo minimo di incubazione;

- idealmente le due date saranno simili e rappresenteranno il probabile momento di esposizione;
- in alternativa il momento di esposizione può essere calcolato partendo dal picco epidemico e contando all'indietro sull'asse X il periodo medio di incubazione. Questo metodo viene normalmente usato nelle epidemie in corso in cui l'ultimo caso non si è ancora verificato;
- questi metodi non possono essere usati se sono presenti casi secondari o se l'esposizione è prolungata.

Le modalità sono illustrate nella figura 3

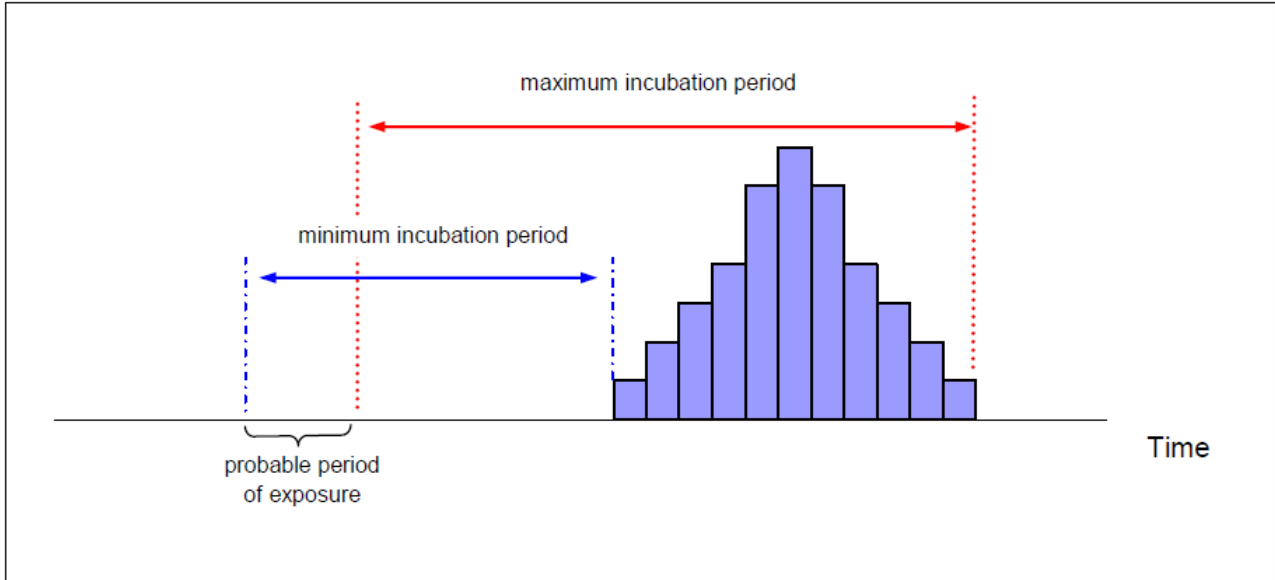


Figura 3: Determinazione del probabile periodo di esposizione in una epidemia a sorgente puntiforme da patogeno conosciuto.

**Studi epidemiologici analitici**

Gli studi epidemiologici di tipo analitico si basano sul confronto tra le caratteristiche delle persone sane con quelle delle persone malate per poter quantificare la relazione tra un'esposizione specifica e la malattia. I due tipi di studi analitici comunemente usati nelle indagini di un focolaio sono gli studi di coorte e gli studi caso-controllo.

Quando si indaga un'epidemia potrebbe essere necessario disporre di risultati in tempo utile ad orientare le azioni di controllo e potrebbe essere consigliabile organizzare inizialmente uno studio analitico di dimensioni limitate e rinviare a momenti successivi maggiori approfondimenti per aumentare la conoscenza, ad esempio, del patogeno implicato.

**Studi di coorte retrospettivi**

Gli studi retrospettivi di coorte sono fattibili per focolai in cui è coinvolta una popolazione piccola e ben definita in cui sono identificabili tutti i soggetti esposti e quelli non esposti.

Ciò permette di avere dati sugli alimenti consumati da parte di tutti coloro che hanno partecipato ad uno o più pasti sospetti.

Ad esempio quando un'epidemia si manifesta tra i partecipanti ad un pranzo o ad un banchetto è possibile identificare tutti i soggetti partecipanti e sapere, per ciascuno, lo stato o meno di malattia e i vari cibi consumati tra quelli serviti al ricevimento.

Dopo di che è possibile calcolare tassi di attacco di malattia specifici per ciascun alimento o portata.

Esposizione	Malati	Sani	Totale	Tassi di attacco
Mangiato cibo A	48	20	68	71%
Non mangiato A	2	100	102	2%
Totale	50	120	170	29%

Nell'esempio sopra riportato su 68 persone che hanno consumato il cibo A se ne sono ammalate 48 (tasso di attacco per "A": 48/68=71%). Il tasso di attacco per quelli che non hanno mangiato il cibo A è stato di 2/102, cioè del 2%.

Il cibo A e quello probabilmente implicato in quanto:

- il tasso di attacco è alto tra gli esposti
- il tasso di attacco è basso tra i non esposti
- la differenza tra i due tassi è alta (71-2=69%)
- la maggior parte dei casi sono stati esposti ad A (48/50=96%)

Si può anche calcolare un rapporto tra i due tassi di attacco, denominato Rischio Relativo, che esprime numericamente la forza dell'associazione tra l'esposizione e la malattia.

$$\text{Rischio Relativo} = \frac{\text{Tasso di attacco negli esposti}}{\text{Tasso di attacco nei non esposti}} = \frac{71}{2} = 35.5$$

Nell'esempio illustrato, il tasso di malattia negli esposti è oltre 35 volte più grande che quello nei non esposti, cioè gli esposti hanno una probabilità di sviluppare la malattia 35 volte superiore rispetto ai non esposti.

Naturalmente valori elevati di rischio relativo possono manifestarsi anche per effetto del caso in corso di epidemie di piccola entità. E' quindi opportuno ricorrere a test di significatività statistica per calcolare la probabilità che il valore attenuato sia, appunto, dovuta al caso.

### Studi caso controllo

Vi sono situazioni in cui non è possibile identificare tutte le persone coinvolte nell'episodio o non è possibile ricostruire tutte le informazioni sulla malattia e sull'esposizione di tutti i soggetti. Quando un certo numero di casi è stato identificato negli studi descrittivi e si dispone di informazioni complete sull'esposizione di questi casi si può ricorrere ad un disegno di studio analitico alternativo noto come studio caso-controllo.

In uno studio caso-controllo si confrontano le esposizioni di un gruppo di casi con quelle di un gruppo di soggetti sani definiti "controlli". Le informazioni riguardanti i controlli sono le stesse raccolte per i casi a parte i sintomi e le condizioni cliniche.

Esposizione	Casi	Controlli	Totale
Mangiato cibo A	48	8	56
Non mangiato A	2	42	44
Totale	50	50	100
Percentuale esposti	96%	17%	56%

Nell'esempio il 96% dei casi risulta esposto al cibo A confrontato con il 17% dei controlli. Questo suggerisce che il consumo del cibo A deve essere implicato in qualche modo con la malattia. A differenza dello studio di coorte nello studio caso-controllo non è possibile calcolare il Rischio Relativo siccome non è noto il numero totale delle persone a rischio. Per esprimere l'associazione tra rischio e malattia si ricorre al calcolo

di un diverso indice - denominato Rapporto Incrociato (Odd Ratio) - calcolando il valore dei casi esposti moltiplicati per i controlli non esposti e dividendolo per quello dei casi non esposti moltiplicati per i controlli esposti.

Nell'esempio sopra riportato:

$$\text{Odd Ratio} = \frac{48 \times 42}{2 \times 8} = \frac{2016}{16} = 126$$

Un valore elevato dell'odd ratio può essere interpretato analogamente ad un valore elevato di rischio relativo. Naturalmente, anche in questo caso, opportuno ricorrere ad un test di significatività statistica per stabilire la probabilità che il risultato ottenuto sia dovuto all'effetto del caso.

L'elemento più delicato di uno studio caso-controllo consiste nella scelta dei controlli.

Concettualmente i controlli non devono essere ammalati ma devono essere rappresentativi della popolazione da cui provengono i casi. Dovrebbero consentire di stabilire il livello esposizione di fondo ai vari fattori di rischio presenti nella popolazione così da consentire di identificare quell'esposizione più elevata che è, nei casi, probabilmente responsabile della malattia.

Nel caso delle malattie trasmesse da alimenti alimentari i controlli più frequentemente utilizzati sono:

- a) vicini dei casi,
- b) pazienti dello stesso medico o ospedale e che non hanno manifestato sintomi,
- c) membri delle famiglie dei casi,
- d) persone che hanno partecipato ad uno stesso evento (pasto comune) con i casi ma non si sono ammalati (identità temporale),
- e) persone che hanno mangiato nella stessa struttura dei casi ma che non si sono ammalati (diversità temporale).

Per quanto riguarda il numero di controlli da selezionare, normalmente in un focolaio di 50 persone o più è sufficiente un controllo per ogni caso mentre per numeri più bassi di casi vengono usati 2, 3 o 4 controlli per caso.