



**CENTRO NAZIONALE DI EPIDEMIOLOGIA
SORVEGLIANZA E PROMOZIONE DELLA SALUTE**
EPIDEMIOLOGIA DELLE MALATTIE INFETTIVE
VIALE REGINA ELENA, 299 - 00161 ROMA
TEL. 0649902273 - FAX 0649387292

Roma, 5 luglio 2013

A cura di:

**Caterina Rizzo, Valeria Alfonsi, Carmen Montano, Lara Ricotta, Maria Elena Tosti (CNESPS-ISS)
Anna Rita Ciccaglione, Roberto Bruni, Stefania Taffon (DIP. MIPI-ISS)
Luca Busani, Dario De Medici, Simona di Pasquale, Martina Escher, Gaia Scavia (DSPVSA-ISS)**

In rilievo:

- Da gennaio 2013 si è assistito ad un importante incremento del numero dei casi di epatite A rispetto agli anni precedenti
- L'incremento registrato è prevalentemente concentrato nelle regioni del Nord Italia, ed in particolare in 7 regioni (P.A. di Trento e Bolzano, Emilia Romagna, Lombardia, Friuli Venezia Giulia, Piemonte e Veneto), dove si registra il 58% dei casi segnalati nel 2013. Un incremento importante è stato registrato anche in Puglia.
- Dalla pubblicazione della Circolare "Individuazione casi di epatite A in Italia" (23/05/2013) sono pervenute da 16 regioni un totale di 198 segnalazioni di casi di epatite A. Si sottolinea l'importanza di raccogliere e recuperare, attraverso l'indagine epidemiologica, le informazioni sui principali fattori di rischio dei casi (consumo di frutti di mare crudi o poco cotti, consumo di frutti di bosco surgelati o prodotti guarniti con gli stessi, consumo di acqua non potabile, storia di viaggi in aree a rischio, storia di contatti stretti con casi di malattia). In particolare, si raccomanda di raccogliere informazioni sulla marca di frutti di bosco surgelati implicata o sul luogo dove sono stati consumati.
- Da una analisi preliminare dei risultati dello studio caso-controllo effettuato nella P.A. di Trento il consumo di frutti di bosco surgelati è risultato il fattore di rischio più associato alla malattia rispetto a tutti quelli indagati (OR: 5.3; 95% I.C.: 2.1-15.1). Attualmente lo stesso studio è in corso in altre 4 regioni e P.A. (Friuli Venezia Giulia, Emilia-Romagna, P.A. di Bolzano, Puglia).
- Sono risultati contaminati da virus dell'epatite A, 4 diversi campioni di frutti di bosco surgelati corrispondenti ad altrettanti prodotti mix a base di ribes rossi, mirtilli neri, more e lamponi. In seguito al riscontro di positività, i lotti positivi (Mix BOSCO REALE lotto 13036 della ditta ASIAGO FOOD; 2 Mix BOSCO BUONO della ditta Green Ice lotto 13015 e lotto 13079; mix frutti di bosco della ditta ERICA) e quelli relativi alle materie prime, sono stati sottoposti a sequestro presso le ditte produttrici.
- La sequenza virale ottenuta dall'Istituto Zooprofilattico della Lombardia e dell'Emilia Romagna (IZSLER), da un campione di frutti di bosco positivo al rilevamento di virus dell'epatite A, prelevato nella regione Veneto a seguito di un cluster epidemico, è risultata identica a quella isolata dai casi umani.
- Sebbene ottenuta da un solo campione per ben note difficoltà tecniche di rilevamento, la sequenza da frutti di bosco, identica a quella dei casi, suggerisce fortemente che tale alimento possa essere la fonte di infezione.
- in data 3/07/2013 è stata inviata dal Dav allerta del Ministero una nota ai referenti regionali dei SIAN richiedendo l'immediata adozione di provvedimenti efficaci di ritiro e di richiamo sul prodotto delle ditte sopra citate, indipendentemente dai lotti, e ogni altra misura utile a garanzia della tutela del consumatore.
- Il 19 giugno 2013 tramite le piattaforme EPIS ed EWRS è pervenuta la segnalazione da parte dell'Irlanda di tre casi di epatite A in cittadini irlandesi che non avevano storia di viaggio in Italia e che avevano consumato frutti di bosco surgelati nel periodo di incubazione. Tutti e 3 i casi presentavano una sequenza identica a quella isolata dai casi italiani, olandese e tedesco e dal campione di frutti di bosco surgelati risultato positivo.

Epatite virale A in Italia, 2013

A maggio del 2013, attraverso le piattaforme Europee l'Epidemic Intelligence Information System (EPIS) dell'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) e l'Early Warning Response System (EWRS) della Commissione Europea, il Ministero della Salute e l'Istituto Superiore di Sanità hanno ricevuto la segnalazione di 15 casi di Epatite A in soggetti residenti in Germania, Olanda e Polonia che avevano soggiornato come turisti nelle Province Autonome di Trento e Bolzano in un periodo compatibile con l'incubazione della malattia.

Prime azioni intraprese al livello Centrale e Regionale

A seguito di quanto sopra descritto, il 23 maggio 2013 è stata emanata una Circolare Ministeriale

(http://www.trovanorme.salute.gov.it/renderNormsanPdf.jsessionid=849CnD5SaZMngRbAk8X0tw_?anno=0&codLeg=46074&parte=1%20&serie=) al fine di rafforzare la sorveglianza epidemiologica e microbiologica dell'Epatite A in Italia.

La circolare prevede che:

- tutti i casi umani siano tempestivamente segnalati (secondo il flusso del DM del 15/12/1990) al Ministero ed all'ISS e i campioni clinici di siero dei casi vengano trasmessi al Laboratorio di Riferimento dell'ISS per l'Epatite A per effettuare la genotipizzazione ed il sequenziamento dei virus circolanti in Italia.
- tutti i campioni di alimenti sospetti siano campionati e trasmessi all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale competente per territorio per le indagini di laboratorio.

Inoltre, al fine di assicurare una gestione corretta dell'epidemia, è stato individuato e formalizzato all'interno dell'Istituto Superiore di Sanità un gruppo di lavoro multidisciplinare di esperti con mansioni operative modulate sulla base delle rispettive competenze. Sono stati pertanto coinvolti il Centro Nazionale di Epidemiologia Sorveglianza e Promozione della Salute (per il coordinamento degli studi epidemiologici descrittivi ed analitici nell'uomo), il Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate (per il coordinamento delle indagini di laboratorio nell'uomo) ed il Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare (per il coordinamento delle indagini epidemiologiche e di laboratorio negli alimenti).

Contemporaneamente, il Ministero della Salute (DG Prevenzione e DG per la Sanità veterinaria e la sicurezza degli alimenti e la nutrizione) ha attivato una Task Force con l'Istituto Zooprofilattico della Lombardia e dell'Emilia Romagna (Centro di riferimento Nazionale per i rischi emergenti in sicurezza alimentare) e con il gruppo di lavoro multidisciplinare di esperti dell'Istituto Superiore di Sanità, per rispondere all'incremento del numero di casi di Epatite A osservato in Italia.

Attività del Gruppo di lavoro ISS e sinergia con le Regioni e con la Task Force del Ministero della Salute

Il gruppo di lavoro ISS sta conducendo le seguenti attività:

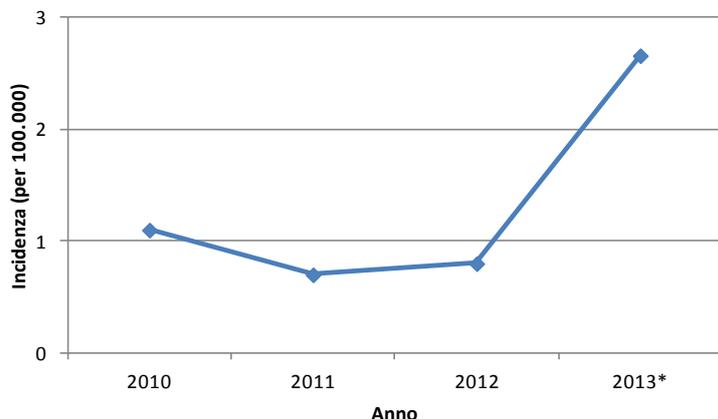
- indagine epidemiologica sui casi umani (studio dell'epidemia e studio caso controllo per valutare i possibili veicoli di infezione)
- analisi di laboratorio sui campioni umani per genotipizzare e sequenziare i virus, isolati dai casi, sul territorio nazionale e valutare così la presenza di più fonti indipendenti di infezione
- indagini di tracciabilità (trace back e trace forward) sugli alimenti sospetti in collaborazione con le regioni
- elaborazione e disseminazione di protocolli di campionamento delle matrici alimentari di origine vegetale, in particolare dei frutti di bosco, per la ricerca del virus HAV
- disseminazione del metodo ISO/TS 15216 di recente pubblicazione. Tale metodo prende in considerazione le problematiche analitiche riguardo alla determinazione dell'HAV nelle matrici alimentari.

Andamento dei casi di Epatite A in Italia

Attraverso i dati del Sistema Epidemiologico Integrato dell'Epatite Virale Acuta (SEIEVA) è stata calcolata l'incidenza di Epatite A in Italia, dal 2010 al 2013, sul totale della popolazione afferente alle ASL che partecipano alla rete di sorveglianza. In Figura 1 sono riportate le

incidenze per anno che mostrano un chiaro incremento dei casi di Epatite A in Italia nel 2013.

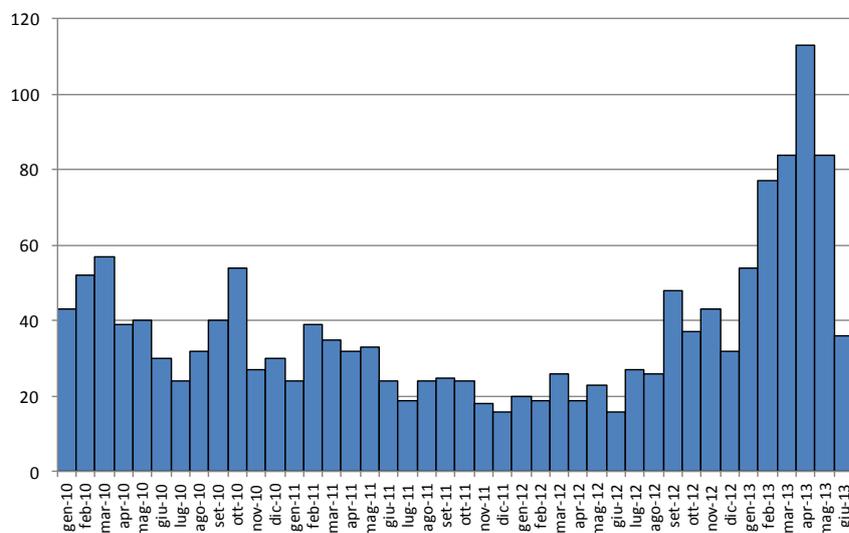
Figura 1 Incidenza di Epatite A in Italia, SEIEVA, 2010-2013*



*dati provvisori

L'andamento dei casi di Epatite A per mese e anno è riportato in Figura 2. Si può vedere come da gennaio 2013 si è assistito ad un importante incremento del numero dei casi rispetto agli anni precedenti, con il picco raggiunto ad aprile. Nei mesi di maggio e giugno 2013, dai dati SEIEVA, si evince una riduzione del numero dei casi. Tuttavia, tale flessione va interpretata con cautela in quanto vi sono regioni che non partecipano con tutte le ASL del loro territorio alla sorveglianza e pertanto, tali dati, potrebbero non essere esaustivi.

Figura 2. Andamento per mese delle segnalazioni di Epatite A, SEIEVA 2010-2013*

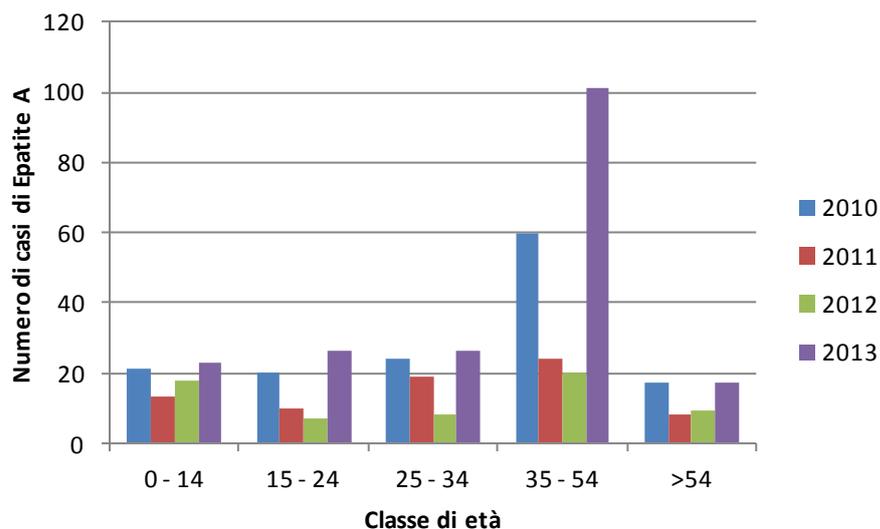


* dati provvisori

La distribuzione dei casi per fascia di età mostra un incremento nei soggetti di età compresa fra 35-54 anni (52%) seguita dalle classi di età 25-34 e 15-24 (14%), 0-4 (10%), e >54 (9%). Andamento del tutto sovrapponibile a quello degli anni precedenti (Figura 3).

L'età media dei casi è di 35 anni (range 2-63 anni) con una distribuzione fra maschi e femmine molto simile (55% vs 45%). In totale sono state ospedalizzate 159 persone, la maggior parte appartenenti alla classe di età 35-54, e 4 casi sono risultati vaccinati per l'Epatite A, ma con una dose entro 3 settimane dall'inizio dei sintomi, pertanto non possono essere considerati fallimenti vaccinali.

Figura 3. Distribuzione delle segnalazioni per fascia di età, SEIEVA 2010-2013*



* dati provvisori

Dal 1 gennaio al 30 giugno 2013 sono stati segnalati al SEIEVA, 448 casi di Epatite A rispetto ai 123 segnalati nello stesso periodo del 2012 (Tabella 1). Corrispondente ad un incremento del 70%, del 58% e 42% rispetto allo stesso periodo del 2012, 2011 e 2010, rispettivamente.

Tabella 1. Numero di casi per regione e per anno, nel periodo gennaio-giugno 2010-2013*

Regione	N. ASL partecipanti	2010	2011	2012	2013*	Totale
Piemonte	completa	30	12	17	35	94
Valle d'Aosta	completa	3	2	1	1	7
Lombardia	11/15	20	21	19	50	110
P.A. Bolzano	1/4	4	1	1	7	13
P.A. Trento	completa	5	1	4	33	43
Veneto	completa	42	18	13	43	116
Friuli Venezia Giulia	4/6	4	6	4	18	32
Liguria	completa	6	3	5	10	24
Emilia Romagna	completa	61	20	18	76	175
Toscana	completa	19	19	5	43	86
Umbria	completa	4	0	3	11	18
Marche	completa	17	7	9	23	56
Lazio	completa	24	16	14	4	58
Abruzzo	¼	1	0	0	4	5
Molise	non partecipa	-	-	-	-	-
Campania	3/12	5	3	2	4	14
Puglia	completa	14	56	7	81	158
Basilicata	2/5	1	0	0	0	1
Calabria	2/11	0	1	0	0	1
Sicilia	2/9	1	0	1	0	2
Sardegna	5/8	0	1	0	5	6
Totale	139/181	261	187	123	448	1,019

*dati provvisori

L'incremento registrato è prevalentemente concentrato nelle regioni del Nord Italia, ed in particolare in 7 regioni (P.A. di Trento e Bolzano, Emilia Romagna, Lombardia, Friuli Venezia Giulia, Piemonte e Veneto), dove si registra il 58% dei casi segnalati nel 2013. Un incremento importante è stato registrato anche in Puglia.

Tabella 2. Distribuzione delle segnalazioni di Epatite A in 7 regioni del Nord Italia (P.A. di Trento e Bolzano, Emilia Romagna, Lombardia, Friuli Venezia Giulia, Piemonte e Veneto), gennaio-giugno 2013

Regione	Numero	%
Piemonte	35	13.4
Lombardia	50	19.1
Prov. aut. Bolzano	7	2.7
Prov. aut. Trento	33	12.6
Veneto	43	16.4
Friuli Venezia Giulia	18	6.9
Emilia Romagna	76	29.0
Totale	262	

Dati trasmessi dalle regioni dalla pubblicazione della Circolare (23 maggio 2013)

Sono pervenute un totale di 198 segnalazioni di Epatite A da 16 regioni (Tabella 3).

Tabella 3. Numero di segnalazioni di Epatite A pervenute dal 23 maggio al 30 giugno 2013 per regione e presenza del fattore di rischio consumo di frutti di bosco surgelati.

Regione	Numero di segnalazioni	Consumo di frutti di bosco
Abruzzo	4	
Emilia Romagna	16	5
friuli	2	1
FVG	3	1
Lazio	3	1
Liguria	3	
Lombardia	45	17
Marche	7	4
P.A. Bolzano	4	
P.A. Trento	10	10
Piemonte	20	3
Puglia	40	
Sicilia	1	
Toscana	15	1
Umbria	5	
Veneto	20	3
Totale	198	46

Delle 198 schede di notifica inviate solo nel 23% era riportata l'informazione circa il consumo di frutti di bosco surgelati, mentre nel 72% dei casi l'informazione non era riportata. Si sottolinea l'importanza di raccogliere e recuperare, attraverso l'indagine epidemiologica, le informazioni sui principali fattori di rischio dei casi (consumo di frutti di mare crudi o poco cotti, consumo di frutti di bosco surgelati o prodotti guarniti con gli stessi, consumo di acqua non potabile, storia di viaggi in aree a rischio, storia di contatti stretti con casi di malattia). In particolare in relazione alla situazione attuale e in conseguenza alla positività per il virus dell'epatite A di 4 campioni di frutti di bosco, implicati in episodi epidemici, si raccomanda di raccogliere anche informazioni sulla marca di frutti di bosco surgelati implicata o sul luogo

dove sono stati consumati. Tutto ciò per riuscire a definire quanti dei casi che si stanno verificando sono realmente attribuibili a tale fattore di rischio e per implementare le azioni di controllo sugli alimenti in causa.

Studio caso-controllo

Al fine di descrivere l'epidemiologia, formulare ipotesi sulla causa dell'epidemia, testare tali ipotesi ed individuare la fonte comune dell'infezione, il CNESPS, in collaborazione con alcune delle Regioni interessate dall'incremento (P.A. di Trento e Bolzano, Emilia Romagna, Friuli Venezia Giulia e Puglia), ha messo a punto un protocollo di studio analitico di tipo caso-controllo. L'indagine ha coinvolto anche la Regione Puglia, che ha registrato nel 2013 un importante incremento del numero dei casi (pari al 22% del dato nazionale), 7 dei quali presentavano sequenza identica a quella isolata nel campione di frutti di bosco surgelati. Per la raccolta dei dati è stato utilizzato un questionario standardizzato somministrato per via telefonica da personale adeguatamente addestrato.

Ad oggi sono state condotte le seguenti attività:

- **FVG:** sono stati intervistati 14 casi e 44 controlli, in loco.
- **P.A. Trento:** sono stati intervistati 31 casi e 95 controlli, in loco.
- **Emilia-Romagna:** Indagine in corso, (70 casi e 280 controlli)
- **P.A. di Bolzano:** Indagine in corso, (5 casi e 20 controlli)
- **Puglia:** Indagine in corso, (7 casi e 28 controlli)

Una volta terminata la raccolta e l'inserimento dei dati i risultati saranno messi a disposizione del Ministero della Salute e delle Regioni partecipanti allo studio.

Per la P.A. di Trento è stata effettuata un'analisi preliminare dei dati, dalla quale emerge:

- Età media dei pazienti: 36 anni (range 13-63), prevalenza di sesso maschile (64.5%; 20/31).
- Il consumo di frutti di bosco surgelati è risultato il fattore di rischio più associato alla malattia rispetto a tutti quelli indagati (OR: 5.3; 95% I.C.: 2.1-15.1).

Indagini di laboratorio

Il gruppo di lavoro del Reparto Epatiti Virali, Dip.MIPI dell'ISS, si sta occupando di eseguire le indagini di laboratorio sui campioni clinici dei casi per ottenere le sequenze dei virus ed armonizzare la metodica di sequenziamento con l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna (IZSLER) e con i Laboratori di riferimento regionali laddove presenti.

Dal 28/05/13 al 02/07/13 sono pervenuti al Dip.MIPI un totale di 44 campioni clinici di casi di epatite A, confermati dal rilevamento di anticorpi anti-HAV IgM effettuato presso la struttura ospedaliera di provenienza. Dei campioni pervenuti, finora 41 sono stati sottoposti ad amplificazione con nested-PCR della regione VP1/2A del genoma di HAV per il sequenziamento e la definizione del genotipo, e 27 sono stati anche sottoposti a valutazione della carica virale nel siero mediante Real Time PCR. Un prodotto di nested-PCR da sequenziare è stato ottenuto da 37 dei 41 campioni saggiati, e ad oggi sono completate le sequenze di 10 di essi. Per gli altri campioni il sequenziamento è in corso.

Il Dip.MIPI ha inoltre ricevuto dati di sequenziamento della regione VP1/2A da un totale di 41 casi di epatite A e da 1 campione di frutti di bosco da 4 laboratori di riferimento regionali:

- 4 sequenze da campioni fecali ed 1 sequenza da frutti di bosco da IZSLER (Dr.ssa Losio);
- 3 sequenze rappresentative di 3 distinti cluster epidemici di 23, 3 e 7 casi dal Lab. Epidemiologia Molecolare - Az. Osp. Universitaria di Bari (Prof.ssa Chironna);
- 3 sequenze dall' U.O.C. Microbiologia e Virologia - Az. Osp. Padova (Dr.ssa Pacenti);
- 1 sequenza dal Dip. Scienze Biomediche per la Salute - Univ. di Milano (Prof. Zanetti), (che ha anche inviato 5 sequenze della regione VP3/VP1 del virus).

Tutte le sequenze disponibili sono state sottoposte a confronto tra loro e con quelle fornite dai laboratori di riferimento olandese e tedesco, ottenute rispettivamente da un turista olandese e da un turista tedesco con epatite A che avevano soggiornato nella P.A. di Trento durante il periodo di presunta esposizione.

Complessivamente, è emerso che in 21 casi di epatite A le sequenze dei virus, di genotipo IA, sono risultate identiche tra loro, nonché identiche a quelle fornite dai laboratori olandese

e tedesco (100% identità nucleotidica nella regione VP1/2A confrontata). Inoltre la sequenza virale ottenuta dall'IZSLER da un campione di frutti di bosco positivo al rilevamento di HAV, prelevato nella regione Veneto a seguito di un cluster epidemico, è risultata identica a quelle sopra descritte.

Due delle sequenze ottenute in ISS non erano sovrapponibili alle altre: una, che presentava come fattore di rischio il viaggio in Egitto, è risultata di genotipo diverso, IB, mentre la seconda, sebbene di genotipo IA, non aveva completa omologia nucleotidica con quella degli altri virus isolati.

Si può concludere che molti dei casi segnalati da diverse regioni ed esaminati in diversi laboratori (ISS, Lab. di riferimento regionali, Lab. Olandese, Lab. Tedesco) presentano la stessa sequenza virale, di genotipo IA, che indica fortemente una fonte comune di infezione. Sebbene ottenuta da un solo campione per ben note difficoltà tecniche di rilevamento, la sequenza da frutti di bosco, identica a quella dei casi, suggerisce fortemente che tale alimento possa essere la fonte di infezione.

Attività di indagine sugli alimenti sospetti

A seguito delle indagine epidemiologiche condotte sui casi epidemici e delle allerte europee, a partire dal 19/4/13 è stato sottoposto a test di laboratorio per la ricerca del virus HAV un totale di 186 campioni di alimenti ed acque, prelevati in diverse regioni (Emilia-Romagna, Veneto, PA Trento, Piemonte, Lombardia), lungo l'intero arco della filiera produttiva (dati aggiornati al 11/6/2013).

Le matrici alimentari esaminate presso il Reparto Tecnologia Acidi Nucleici Applicata agli alimenti dell'IZSLER comprendevano frutti di bosco (n=88); verdure a foglia (n=71); acque (n=17); altri frutti (n=13); altri ortaggi (n=4); alimenti pronti al consumo (n=1) e confetture (n=1).

Sono risultati contaminati da virus HAV, 4 diversi campioni di frutti di bosco surgelati corrispondenti ad altrettanti prodotti mix a base di ribes rossi, mirtilli neri, more e lamponi.

In seguito al riscontro di positività:

- i lotti risultati positivi (Mix BOSCO REALE lotto 13036 della ditta ASIAGO FOOD; 2 Mix BOSCO BUONO della ditta Green Ice lotto 13015 e lotto 13079; mix frutti di bosco della ditta ERICA) e quelli relativi alle materie prime, sono stati sottoposti a sequestro presso le ditte produttrici,
- il punto di contatto nazionale per il sistema di allerta rapido europeo (Rapid Alert System for Food and Feed - RASFF) della Direzione generale dell'igiene e sicurezza degli alimenti e della nutrizione ha diramato tre notifiche di allerta attraverso la rete nazionale (punti di contatto regionali) ed europea sui lotti contaminati, con la finalità di tracciare i lotti già immessi sul mercato. Tali allerte, tuttora attive, hanno consentito di tracciare il destino commerciale dei lotti già commercializzati (*tracing-forward*), ritirare dal mercato i lotti contaminati e fornire avviso alla popolazione (richiamo) circa il pericolo connesso ai lotti contaminati già acquistati a mezzo stampa e media (es. http://www.provincia.bz.it/usp/285.asp?aktuelles_action=4&aktuelles_article_id=427075),
- è stata avviata un'attività di *tracing-back* dei lotti contaminati, sia attraverso la reti di allerta nazionale e RASFF, che intensificando specificatamente l'attività a livello territoriale, al fine di indirizzare le attività di campionamento sulle matrici alimentari per la ricerca di virus HAV e tracciare la fonte primaria di contaminazione dei prodotti. Tali attività, tuttora in corso, hanno portato al sequestro cautelativo di altri lotti di frutti di bosco perché riconducibili alle materie prime con le quali erano stati prodotti i mix contaminati, e all'ulteriore campionamento di frutti di bosco sia sul territorio nazionale che estero. Le materie prime di origine dei lotti di frutti di bosco contaminati infatti provenivano tutte da Paesi EU (Polonia, Romania, Bulgaria) ed extra-EU (Canada, Serbia),
- è stata intensificata la sorveglianza sui casi per valutare l'esposizione ai frutti di bosco surgelati, al fine di individuare e testare per virus HAV eventuali ulteriori lotti sospetti ed estendere, fin da subito, anche a questi lotti, l'attività di *tracing-back/tracing forward* che normalmente viene avviata soltanto dopo riscontro di positività ai test di laboratorio,

- è stata eseguita un'ispezione presso gli stabilimenti di produzione dei mix di frutti di bosco surgelati contaminati al fine di definire l'origine geografica di provenienza delle materie prime e a ispezionare il ciclo produttivo.
- in data 3/07/2013 è stata inviata dal dav allerta del Ministero una nota ai referenti regionali dei SIAN richiedendo l'immediata adozione di provvedimenti efficaci di ritiro e di richiamo sul prodotto delle ditte sopra citate, indipendentemente dai lotti, e ogni altra misura utile a garanzia della tutela del consumatore.

Epidemia in Europa

Il 19 giugno 2013 tramite le piattaforme EPIS ed EWRS è pervenuta la segnalazione da parte dell'Irlanda di tre casi di epatite A in cittadini irlandesi che non avevano storia di viaggio in Italia e che avevano consumato frutti di bosco surgelati nel periodo di incubazione. Tutti e 3 i casi presentavano una sequenza identica a quella isolata dai casi italiani, olandese e tedesco e dal campione di frutti di bosco surgelati risultato positivo.

Le Autorità sanitarie Irlandesi sono in stretto contatto con il Ministero della Salute e con l'ISS per la conduzione dell'indagine epidemiologica e delle indagini di laboratorio (i campioni di alimenti sospetti sono stati inviati dai colleghi Irlandesi all'IZSLER).