

Presenza e diffusione di anisakidi in alici pescate sulle coste laziali



Dr. Claudio De Liberato

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana



Anisakidae

Anisakis sp.

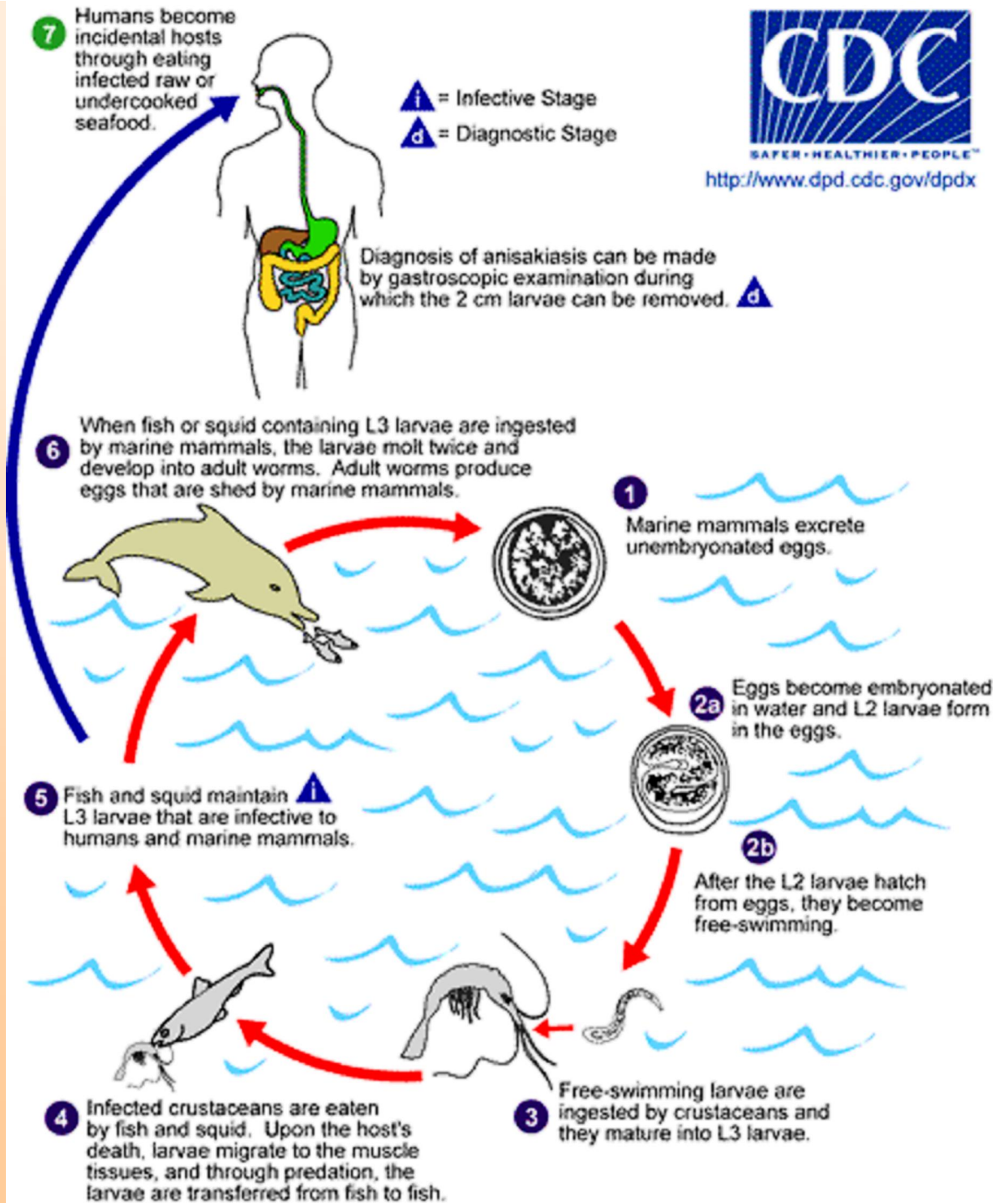
Pseudoterranova sp.

Contracaecum sp.

Hysterothylacium sp.

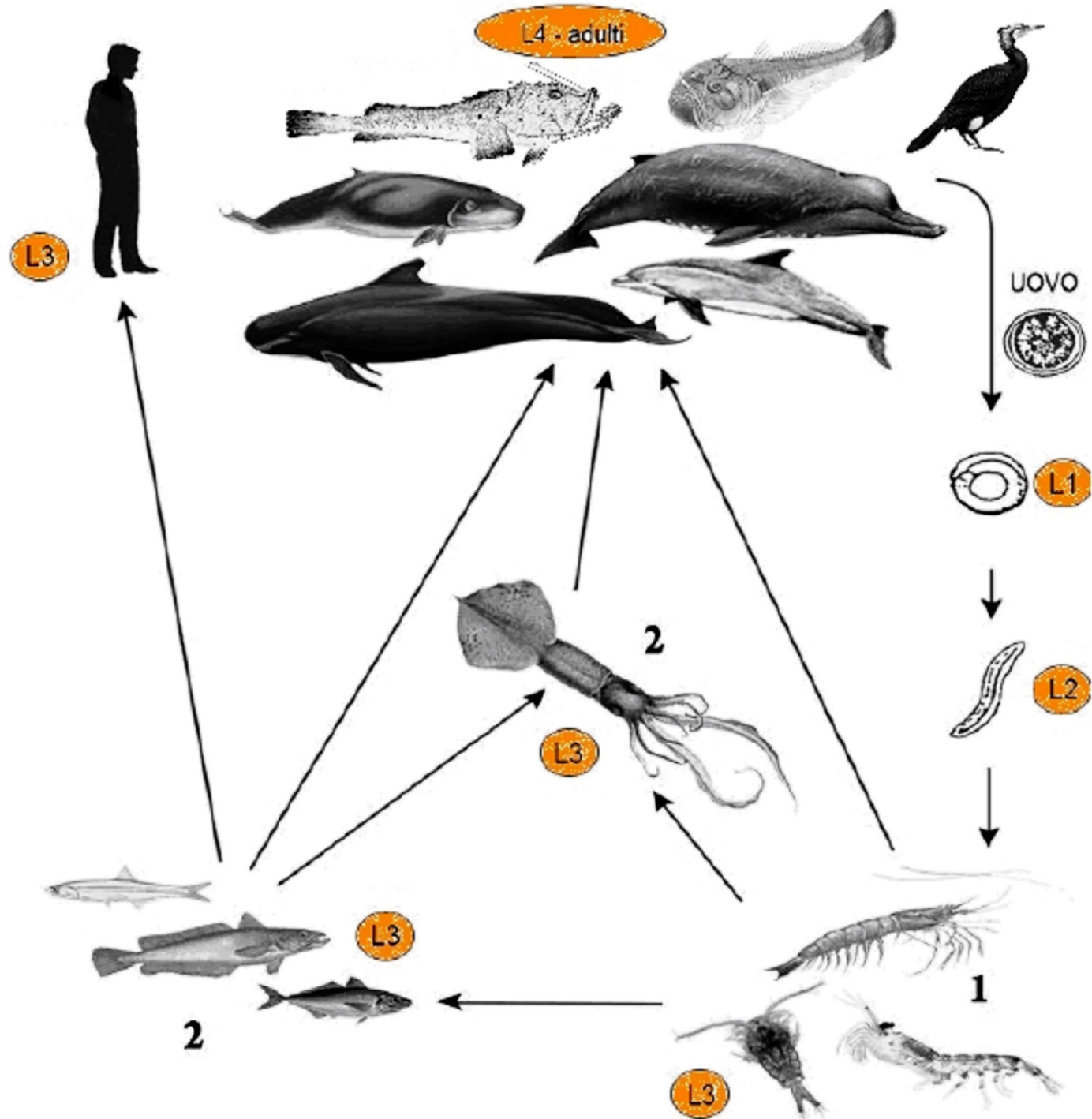
Uomo ospite accidentale
a fondo cieco

Parassitate numerosissime
specie ittiche di valore
commerciale



Anisakidae

Coinvolte
numerosissime
specie di ospiti
definitivi,
intermedi e
paratenici





Anisakidae: praticamente tutte le specie di pesce possono essere infestate, anche per intervento nel ciclo di specie che agiscono da ospiti paratenici (pesce grande mangia pesce piccolo)

MO

identale

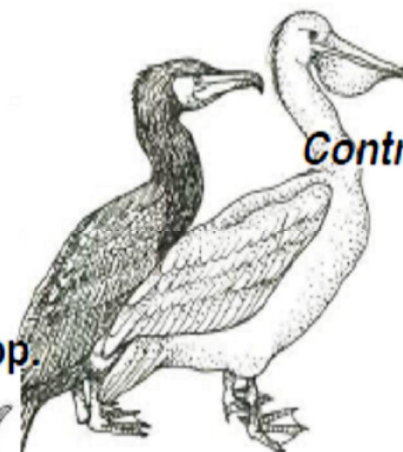
**ospiti
definitivi – L4 e adulti**

Anisakis spp.

Pseudoterranova spp.
Phocascaris spp.
Contracaecum spp.
Anisakis spp.



Contracaecum spp.



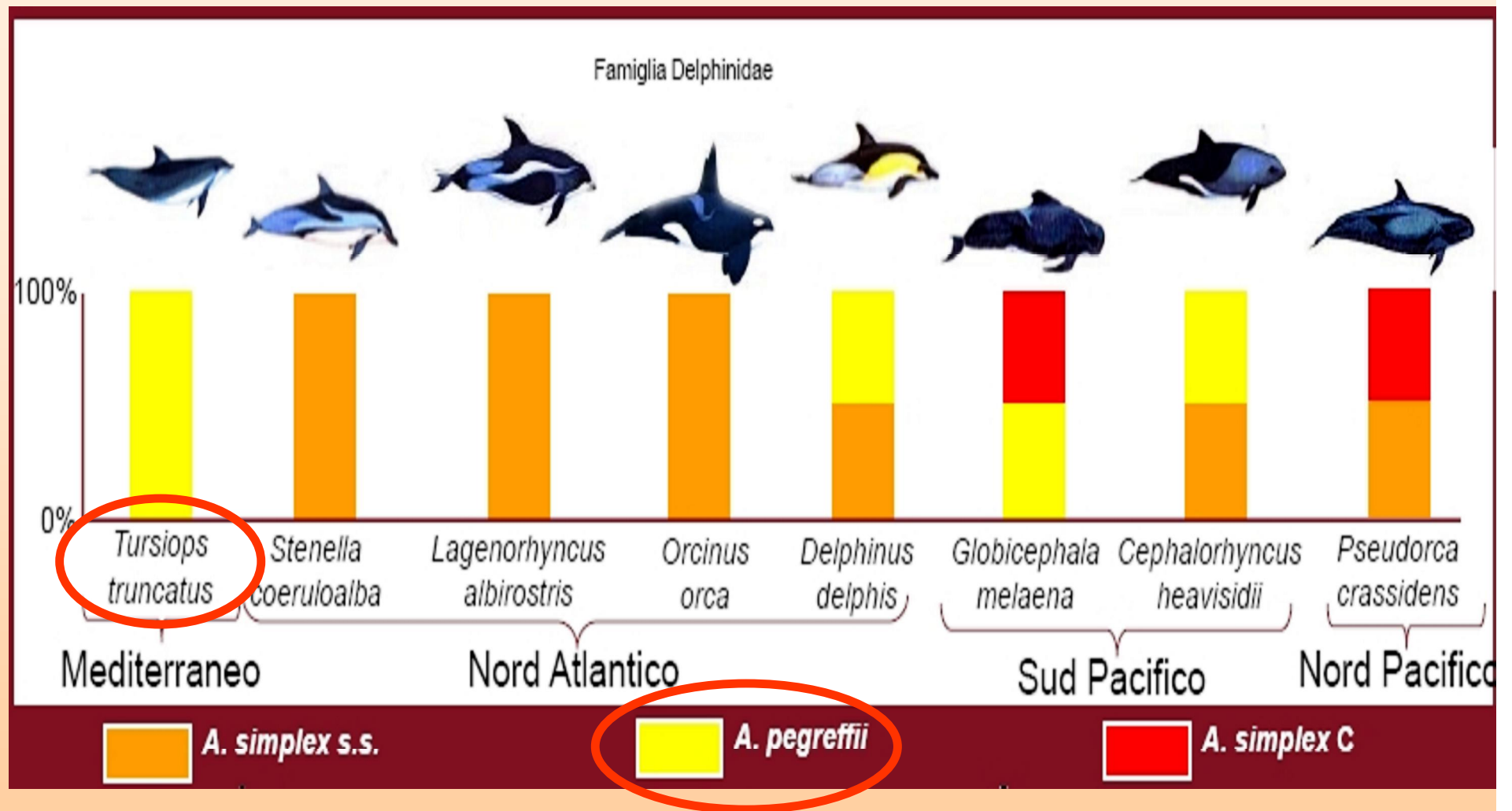
Hysterothylacium spp.



Uovo

da Fioravanti e Gustinelli, 2009

Anisakidae: ospiti definitivi



Anisakis spp.: ospiti definitivi

Prevalenza delle larve di nematodi Anisakidae in pesci del Mediterraneo (Pozio, 2004)

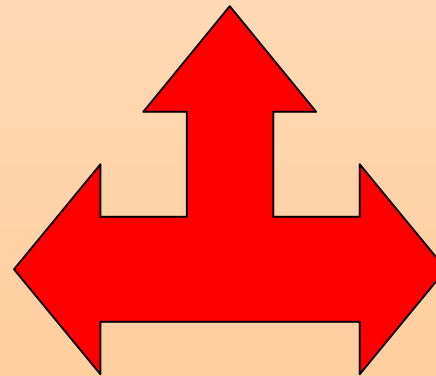
Specie	Nome comune	Prevalenza
<i>Lepidopus caudatus</i>	pesce sciabola	100
<i>Trachurus trachurus</i>	suro	95
<i>Micromesistius poutassou</i>	melù	95
<i>Merlangius merlangius</i>	molo	76
<i>Scomber japonicus</i>	lanzardo	75
<i>Scomber scombrus</i>	sgombro	71
<i>Conger conger</i>	grongo	44
<i>Merluccius merluccius</i>	nasello	40
<i>Boops boops</i>	boga	35
<i>Zeus faber</i>	pesce S. Pietro	33
<i>Lophius piscatorius</i>	rana pescatrice	32
<i>Todarodes sagittatus</i>	totano	22
<i>Trachinus dracho</i>	tracina	21
<i>Phycis phycis</i>	musdea	20
<i>Trisopterus minutus</i>	busbana	19
<i>Engraulis encrasicolus</i>	alice	17
<i>Diplodus annularis</i>	sparaglione	16
<i>Trigla lyra</i>	gallinella	16
<i>Pagellus erythrinus</i>	pagello	10
<i>Mullus barbatus</i>	triglia	10
<i>Mugil cephalus</i>	cefalo	9
<i>Cepola rubescens</i>	cepola	9
<i>Sardina pilchardus</i>	sardina	1

**Partite di pesci
molto comuni
(alici, coda di rospo,
ecc.) spesso con
100% degli
individui parassitati**

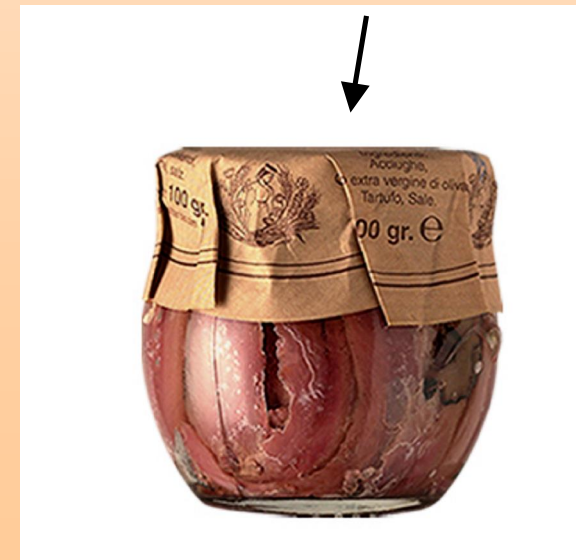
**Pesci di grandi
dimensioni e longevi
con migliaia di larve
per individuo**



**Larve vive
rinvenute
anche in
prodotti
conservati**



Anisakidae



Click to view video of removal of anisakis worm found in stomach during an endoscopy. 5Mb Flash file.



Italia pochi casi annui (<5)

Numero probabilmente sottostimato

Giappone migliaia di casi annui

In aumento in Europa per òmodaö consumo pesce crudo, accresciute capacità diagnostiche e aumento ospiti definitivi per politiche protezioniste

Direttive della UE in proposito, con obbligo congelamento pesce da servire crudo

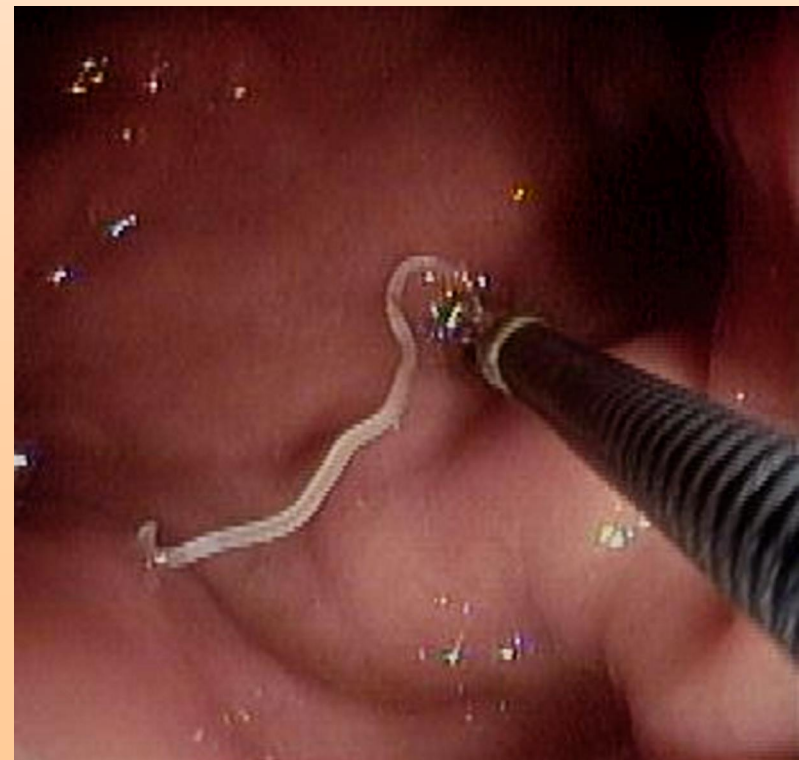
Anisakidae: casi umani

Localizzazione gastrica o intestinale

Misure profilattiche:

- 1) eviscerazione del pesce appena pescato**
- 2) congelamento**
- 3) cottura**

Non inattivate da salagione e marinatura



Anisakidosi: effetti patogeni

É Nella maggioranza dei casi le larve vengono espulse senza provocare sintomi o dopo una sintomatologia gastroenterica autolimitante;

É In alcuni casi le larve si incistano nella parete dello stomaco o dell'intestino;

É Segnalate larve incistate in lingua, fegato, pancreas, esofago, ecc.

É Nel caso in cui la larva si incisti si rende quasi sempre necessaria la sua rimozione chirurgica;

É Sintomi aspecifici, spesso l'anisakidosi viene diagnosticata come altro (appendicite, morbo di Crohn, addome acuto, tumore gastrico, ecc.);

É Rinvenimento della larva spesso òaccidentaleö.



Casi di Anisakiosi umana segnalati nel mondo:

- **Olanda:** dal 1955 al 1968 \Rightarrow 160 casi (sostenuti prevalentemente da *Anisakis*)
- **Giappone:** 16.090 casi diagnosticati fino al 1990 (sostenuti prevalentemente da *Anisakis* - solo circa 50 casi da *Pseudoterranova*) (circa 2000 casi / anno)
- **Usa:** circa 10 casi/anno diagnosticati (sostenuti frequentemente da larve di *Pseudoterranova*)
- **Francia:** si osservano circa 6-7 casi all'anno, dovuti soprattutto a larve di *Anisakis*.
- **Spagna:** decine di casi descritti negli ultimi anni, molti di natura allergica
- + casi sporadici in Germania, Danimarca, Inghilterra, Norvegia, Belgio, Cile, Canada

Anisakiosi umana in Italia

- Il 1° caso ad eziologia certa risale al 1996, la paziente presentava una violenta epigastralgia associata a vomito e diarrea.
- + 28 casi diagnosticati su base istologica/morfologica o su base sierologica riportati in letteratura
- + in Abruzzo dal 1998 al 2002: almeno 32 casi sospetti (oltre 20 confermati) osservati presso l'ospedale di Pescara
- 1 caso di infestazione da *Pseudoterranova decipiens* complex segnalato nel 2002
- Dall'anamnesi di tutti i soggetti risultava il consumo di pesce crudo o poco cotto pochi giorni prima il manifestarsi dei sintomi
- Sono stati descritti alcuni casi di sindromi allergiche da *Anisakis* in seguito ad ingestione o inalazione (possibile malattia professionale immunoallergica?)

Table 3: Conditions for successful killing of *A. simplex* in fishery products

Fish	Treatment	Parameters
Herring	salting	5% NaCl, > 17 weeks
		6-7% NaCl, 10-12 weeks ⁸
		8-9% NaCl, 6 weeks
Anchovies	marinating	20 days
		10% acetic acid plus 12% salt for a minimum of 5 days
		2.4% of acetic acid and 6% of NaCl for 35 days
		10% acetic acid, 12% NaCl for 5 days
Sardines	marinating	6% acetic acid, 10% NaCl for 24h + 4°C for 13 days
Herring	marinating	28 days in brine with 6.3% NaCl and 3.7% acetic acid
Sockeye salmon and canary rockfish	freezing	-35°C for 15h, followed by -18° for 24h
Arrowtooth flounder	freezing	-15°C for 96h; -20°C for 60h; -30°C for 20h; -40°C for 9h
<i>In vitro</i> larvae	freezing	L3 survived at -10°C for up to 4 h and at -5°C for 5 h. No survival at -15°C for few minutes
	heating	60°C for > 15 minutes
	heating	>60°C (core temperature) for 1 min;
	heating	74° for 15 sec
	heating	60°C for 10 min (3 cm thick fillet)
	plant extract	[6]-shogaol at 62.5 µg/ml ; [6]-gingerol at 250 µg/ml
King salmon and Arrowtooth flounder	high pressure	414 MPa for 30-60 seconds
		276 MPa for 90-180 seconds
		207 MPa for 180 seconds
Herring	irradiation	6-10 kGy
Sea eel	irradiation	>1 kGy

- **Alte temperature:**

70°C (1")

50°C (15')

45°C (78')

Raccomandato: 60°C per 10 minuti

- **Basse temperature:**

-35°C (15 ore) (FDA)

-20°C (24-48 ore) (24 ore x EU – 7 gg x FDA)

-10°C (oltre 7 giorni)

- **Affumicatura:**

28°C (87,5% sopravvivenza)

40°C (14,4% sopravvivenza)

60°C (devitalizzazione totale)

da Fioravanti e Gustinelli, 2009

Anisakidae: reazioni allergiche

È probabile causa delle cosiddette allergie al pesce;

È a rischio anche persone che non mangiano pesce crudo;

È malattia professionale per persone che lavorano in stabilimenti di trasformazione, pescherie, ecc., con manifestazioni cutanee e respiratorie per il solo maneggiare pesce infestato.





En Italia il consumo di alici marinate è il principale fattore di rischio (prevalenze d'infestazione fino al 70%);

È rischio zoonosico legato soprattutto al genere *Anisakis*;

È frequente rinvenimento di larve del genere *Pseudoterranova* in prodotti ittici importati di provenienza atlantica (coda di rospo, merluzzo, ecc.)

A tutt'oggi gli anisakidi costituiscono un problema non risolto di ispezione degli alimenti

Le partite di pesce
sono
necessariamente
esaminate a
campione



Possibilità
reazioni
allergiche anche
sul congelato e
sul cotto



Rischio presenza larve
vitali in prodotti
confezionati

Ricerca di larve anisakidi nei pesci

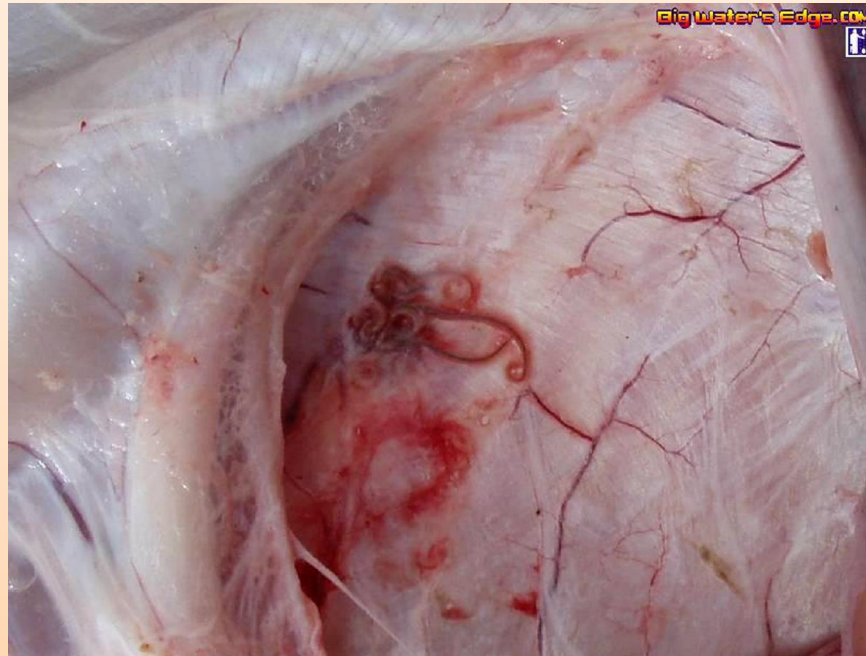
É **Esame visivo** (Regolamenti CE 853 e 854 e relative rettifiche, Regolamento CE 2074)

É **Transilluminazione o speratura** di porzioni di muscolo (max. 5-6 mm) o di filetti (Regolamento CE 2074)

É **Digestione artificiale** di porzioni di filetto (per esaminare pool)



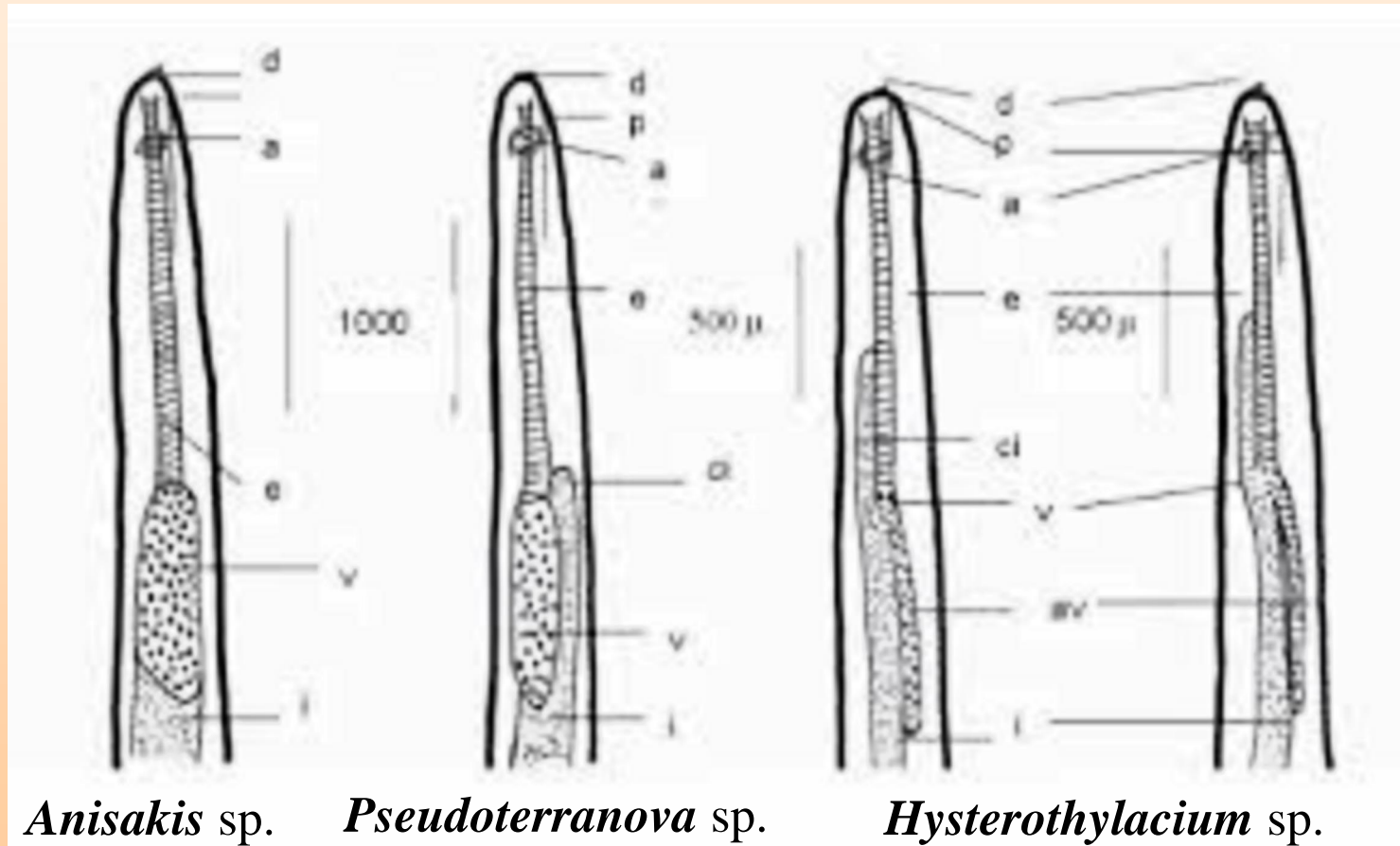
Anisakidae: esame visivo



Relativamente semplice l'evidenziazione in pesci di piccole dimensioni soprattutto a livello del pacchetto viscerale.

Molto più difficile individuare eventuali larve in filetti di pesci di grosse dimensioni

Identificazione morfologica Anisakidae



Identificazione Anisakidae previa chiarificazione in lattofenolo

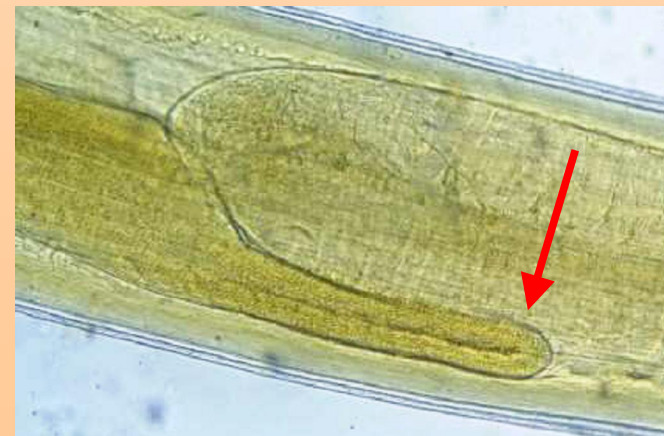
Anisakis sp.: assenza ciechi



Hysterothylacium sp.:
2 ciechi, uno rivolto anteriormente
uno posteriormente



Pseudoterranova sp.:
un unico cieco diretto anteriormente



Su base MORFOLOGICA

A. simplex

A. typica

A. physeteris

***Anisakis* spp.:**
identificazione specifica
solo con tecniche
biomolecolari

Su base GENETICA

A. simplex sensu stricto

A. pegreffii

A. simplex C

(Mattiucci *et al.*, 1997, 1998)

A. typica (Mattiucci *et al.*, 2002)

A. typica B (Mattiucci e Nascetti, 2008)

A. physeteris (Mattiucci *et al.*, 1986, 2001)

A. brevispiculata (Mattiucci *et al.*, 2001)

A. paggie (Mattiucci *et al.*, 2005)

Nuove specie:

A. ziphidarum (Paggie *et al.*, 1998)

A. nascettii (Mattiucci *et al.*, 2009)

**È zone di pesca,
Civitavecchia,
Anzio, Gaeta**

**È 490 alici
esaminate
(campionamento
su base statistica)**

**È 2 campioni da 250
alici per ciascuna
zona di pesca
(Febbraio-Luglio
2012)**

Ricerca Corrente IZSLT 2010



Materiali e Metodi

É Ciascun pesce misurato (peso e lunghezza standard) ed esaminato singularmente per la presenza di larve di Anisakidae;

É Esaminati separatamente visceri e filetti allo stereomicroscopio;



Materiali e Metodi

Dopo ispezione visiva, filetti uniti in pool di 100g e digeriti artificialmente;



Larve inviate all'Università "La Sapienza" per identificazione molecolare.

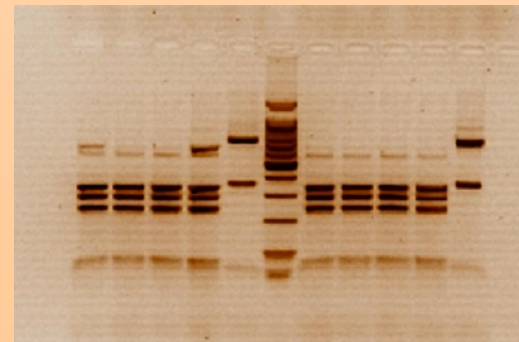


TABLE 1. Fishing area, sample size, standard length and weight of the *Engraulis encrasicolus* tested for anisakid larvae, and the prevalence of these larvae^a

Fishing area	No. of fish examined	Mean (SD) fish length (cm)	Mean (SD) fish wt (g)	Mean (95% CI) prevalence (% of fish examined) of:			
				All anisakids	Unidentified anisakids	<i>Anisakis pegreffii</i>	<i>Hysterothylacium aduncum</i>
Civitavecchia	500	10.2 (0.7)	8.6 (3.2)	4.6 (2.9–6.8)	1.6 (0.7–3.1)	1.4 (0.6–2.9)	1.6 (0.7–3.1)
Anzio	500	10.5 (1.4)	11.3 (3.5)	2.4 (1.2–4.1)	0.2 (0.0–1.1)	1.6 (0.7–3.1)	0.4 (0.0–1.4)
Gaeta	490	9.2 (0.7)	7.2 (1.4)	0	0	0	0
Total	1,490	9.9 (1.1)	9.0 (3.3)	2.3 (1.6–3.2)	0.6 (0.3–1.1)	1.0 (0.6–1.6)	0.7 (0.3–1.2)

^a SD, standard deviation; CI, confidence interval.

È pesci parassitati sempre da un'unica larva;

È pesci positivi significativamente più lunghi dei negativi;

È 4.3% delle larve nei visceri;

È solo una larva rinvenuta dopo la digestione dei pool di filetti.

Risultati

Discussione

È prevalenza inferiore a quella riportata in precedenti studi sull'alice nel Mediterraneo (da 7.1 a 77.0%);

È anche intensità d'infestazione bassa;

È confermata correlazione tra taglia del pesce e prevalenza ed intensità d'infestazione;

È pesci Gaeta più piccoli (e quindi più giovani) degli altri;

È basse prevalenza ed intensità forse legate a scarsità ospiti definitivi (cetacei) nell'area di studio (confronto con mar Ligure).

Discussione

È maggioranza delle larve rinvenute nei visceri, 18-24 ore dopo la pesca;

È ridotta tendenza delle larve a migrare dai visceri ai filetti, almeno in pesci refrigerati;

È *A. pegreffii* rinvenuto più frequentemente di *H. aduncum* nei filetti (potenziale zoonosico);

È esame visivo risultato metodo altamente sensibile (una sola larva òpersaö e rinvenuta dopo digestione artificiale);

È alta sensibilità probabilmente legata alle dimensioni del pesce, tali da consentire l'ispezione dell'intero filetto in trasparenza allo stereomicroscopio!!!



Journal of Food Protection, Vol. 76, No. 9, 2013, Pages 1643–1648

doi:10.4315/0362-028X.JFP-13-092

Copyright ©, International Association for Food Protection

Research Note

Presence of Anisakid Larvae in the European Anchovy, *Engraulis encrasicolus*, Fished Off the Tyrrhenian Coast of Central Italy

CLAUDIO DE LIBERATO,^{1*} TERESA BOSSÙ,¹ PAOLA SCARAMOZZINO,¹ GIUSEPPE NICOLINI,² PIETRO CEDDIA,³
SALVATORE MALLOZZI,⁴ SERENA CAVALLERO,⁵ AND STEFANO D'AMELIO⁵

Ricerca Corrente IZSLT 2010

**Studio sulla presenza e diffusione di larve di nematodi della famiglia
Anisakidae in alici (*Engraulis encrasicolus*) pescate sulle coste laziali ed
in specie ittiche eurialine allevate in gabbie in mare**

**Teresa Bossù
Paola Scaramozzino
Cristina Amoruso
Alessia Scarito** } **IZSLT**

**Serena Cavallero
Stefano Damelio** } **Università "La Sapienza"**

Pietro Ceddia ó ASL RM/H

Giuseppe Nicolini ó ASL RM/F

Salvatore Mallozzi ó ASL LATINA