

# Opisthorchis nelle produzioni ittiche dei laghi laziali

De Liberato C<sup>1</sup>, Scaramozzino P<sup>1</sup>, Micci M<sup>1</sup>, Lorenzetti R<sup>1</sup>, Amiti S<sup>1</sup>, Dell'Aira E<sup>1</sup>, Amoruso C<sup>1</sup>, Fanelli R<sup>1</sup>, Di Cave D<sup>2</sup>, Reali A<sup>2</sup>, Palazzetti M<sup>3</sup>, Berrilli F<sup>2</sup>, Condoleo R<sup>1</sup>, Marozzi S<sup>1</sup>, Martini E<sup>3</sup>, Micarelli G<sup>3</sup>, Lucangeli C<sup>5</sup>, Brozzi A<sup>1</sup>, Aquilani S<sup>4</sup>, Bossù T<sup>1</sup>

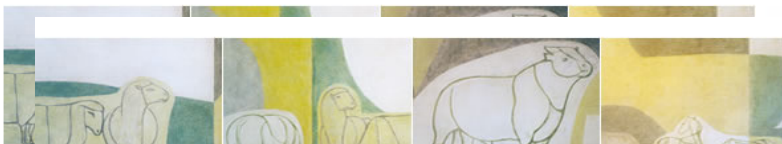
*<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Roma;*

*<sup>2</sup>Dipartimento di Sanità Pubblica e Biologia Cellulare, Università di Roma Tor Vergata;*

*<sup>3</sup>ASL VT2, Viterbo*

*<sup>4</sup>ASL Viterbo – Dipartimento di prevenzione*

*<sup>5</sup>ASL RMF*



## Opisthorchiasi: distribuzione 18 milioni di persone

### *O. viverrini*

Tailandia

Laos

Cambogia

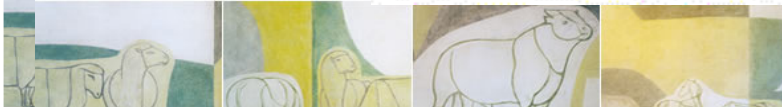
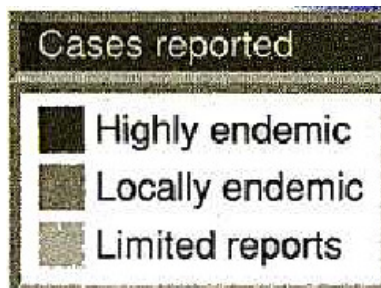
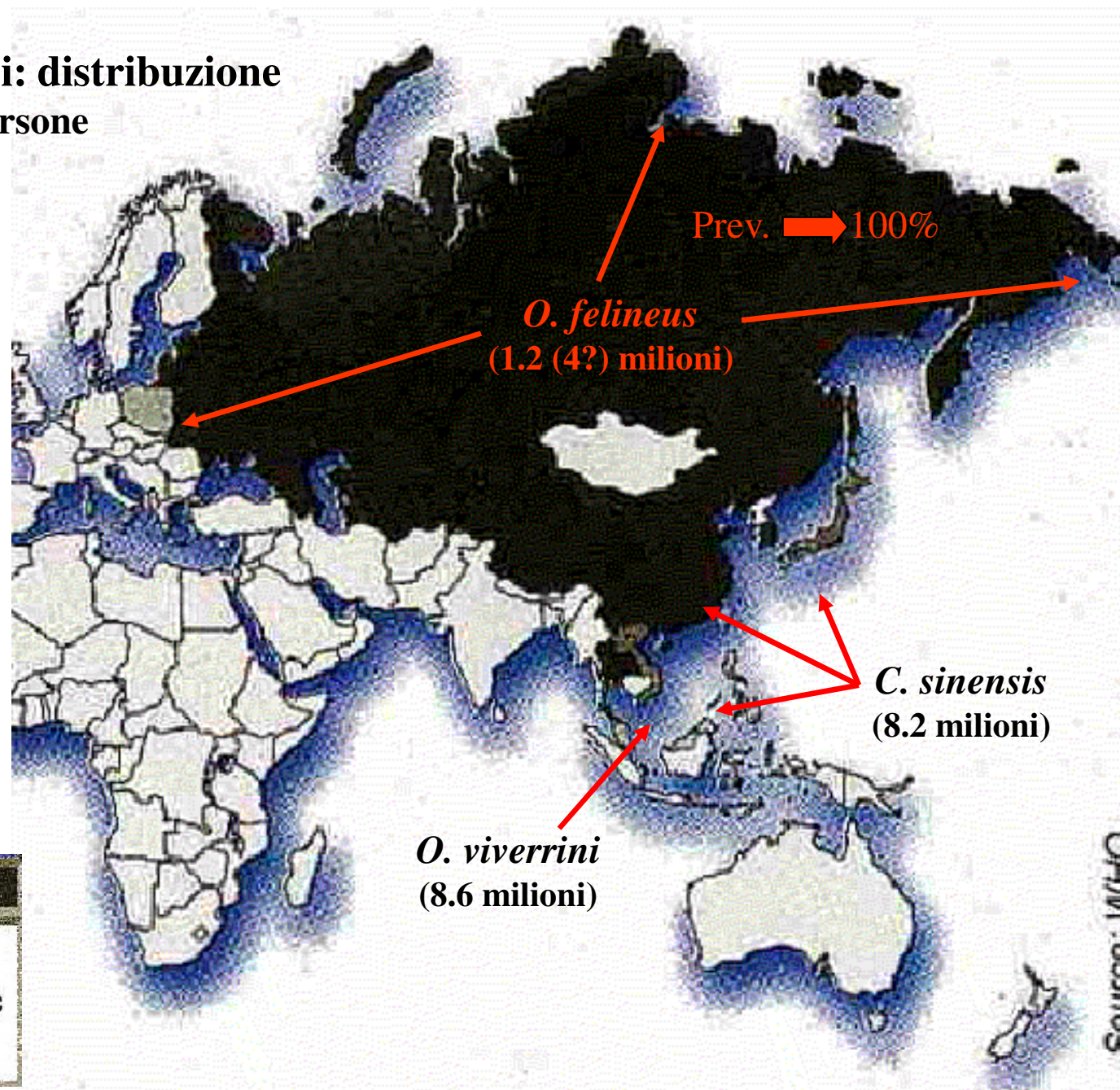
### *C. sinensis*

Corea

Cina

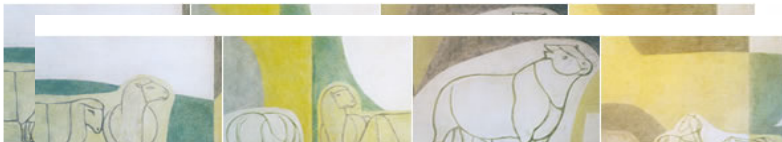
Taiwan

Vietnam





## Opisthorchiasi sud-est asiatico



# Opisthorchiasi in Italia

Infestazioni umane da *Opisthorchis felineus* documentate in Italia

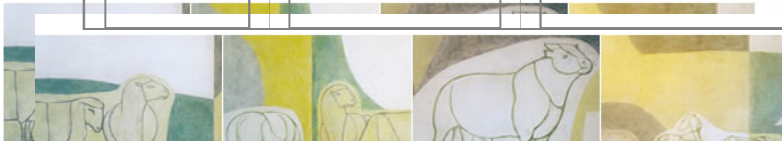
Anno	No. Casi	Pesce consumato	Origine del pesce	Luogo del consumo
2003	2	Tinca marinata	Trasimeno	Lago Trasimeno
2006	8	Tinca, carpa, persico marinati	Trasimeno	Lago Trasimeno
2007	21	Carpaccio di tinca	Bolsena	Cena privata
2007	2	Carpaccio di tinca	Bolsena (??)	Lago di Piediluco
2008	2	??	Bolsena	??



# Opisthorchiasi in Italia

Infestazioni animali da *Opisthorchis felineus* documentate in Italia

Anno	Ospite	% di infestazione	Origine	Modalità di identificazione del parassita
1884	Gatto Cane	?	Toscana	Descrizione adulto da autopsia
1901	Gatto	?	Piemonte	?
?	Gatto	?	Pisa	? (dati non pubblicati Univ. Pisa)
2006	Gatto	40	Isola Maggiore Lago Trasimeno	Osservazione microscopica uova da feci (Crotti et al., 2007)



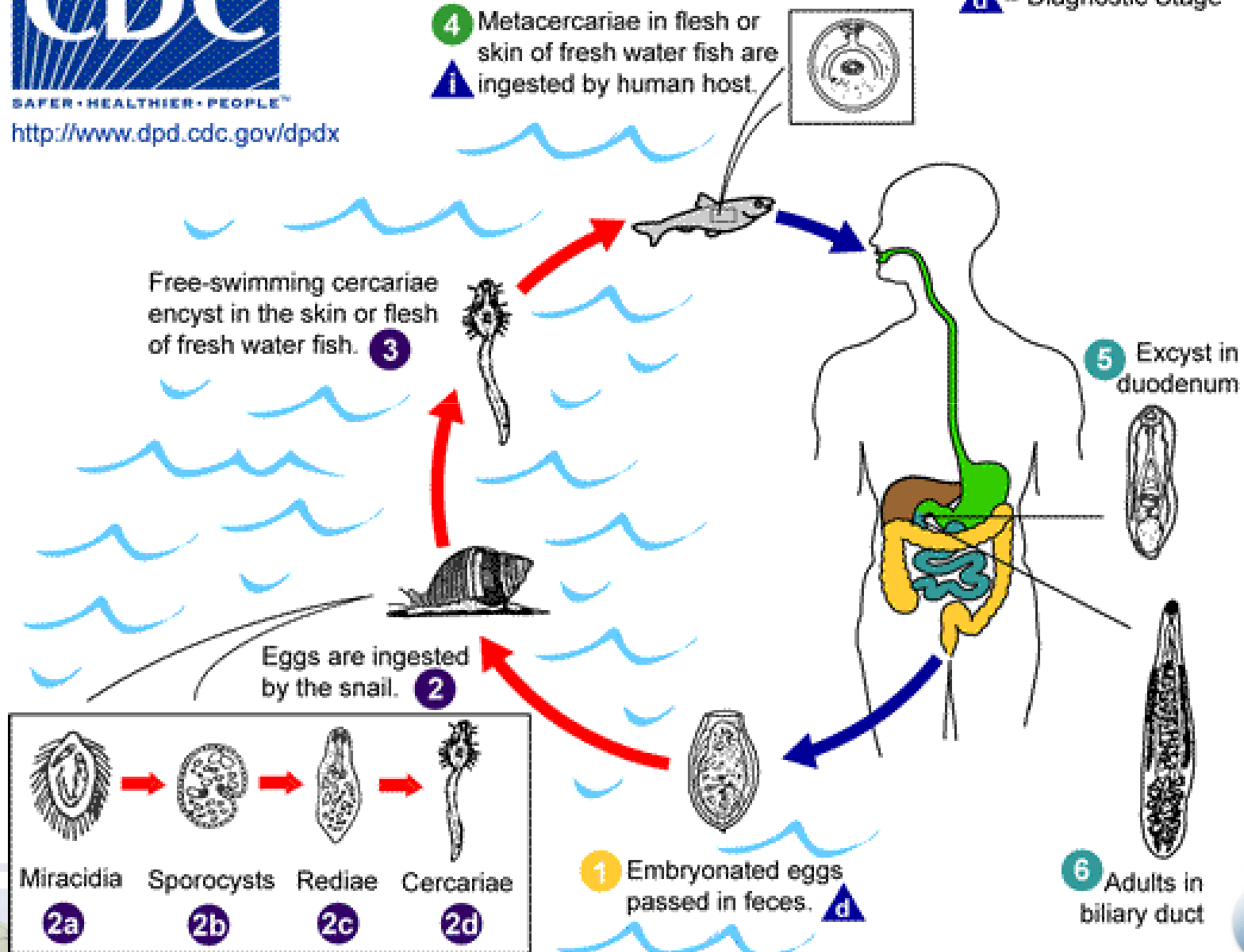
# *Opisthorchis felineus* ciclo



SAFER • HEALTHIER • PEOPLE™

<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>

**i** = Infective Stage  
**d** = Diagnostic Stage



# Bolsena (Vt) 2007: focolaio umano Opistorchiasi in seguito a consumo di tinca marinata

*presenza del parassita nell'area fino ad allora non nota*

## Emergenza

### Aspetti scientifici

IZS – ISS – Ospedale VT

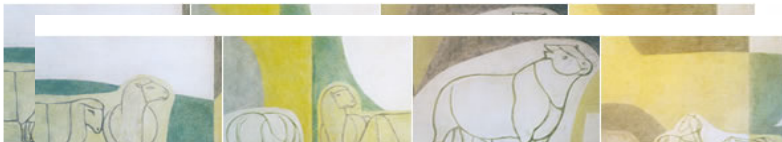
### Ricerca epidemiologica

- diffusione nel parassita ?
- ospiti coinvolti nel ciclo?
- popolazione esposta ?

### Implicazioni in sanità pubblica

ASL VT Servizio veterinario e  
Laboratorio Sanità pubblica

### Primi provvedimenti per la prevenzione

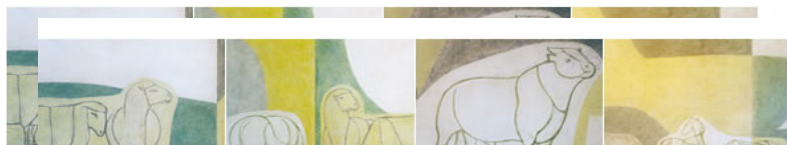


# Primi provvedimenti

**campagna informativa tra la popolazione**

**ordinanze che imponevano il consumo di tinca previa cottura nei comuni  
circumlacustri**

**protocolli diagnostico-terapeutici per i medici di famiglia.**



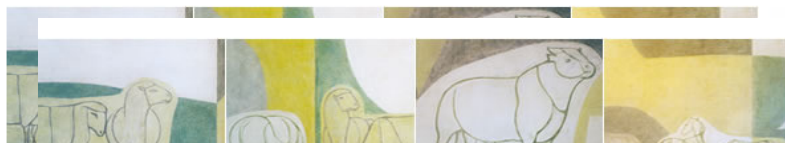


# Ricerca

Ricerca Corrente 2007

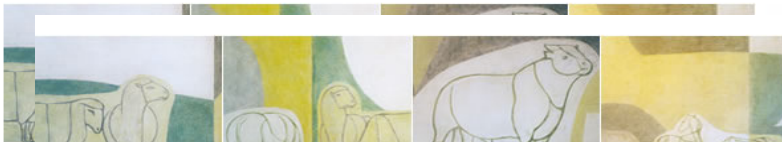
**Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lazio e Toscana**  
**Cattedra di Parassitologia Univ. "Tor Vergata"**  
**ASL VT2**  
**ASL RMF**

*Coinvolgimento anche del lago di Bracciano*



# Obiettivi del progetto di ricerca:

- definire il ciclo biologico del parassita nell'area di studio
- stimare la prevalenza d'infestazione nei diversi ospiti
- individuare le specie ittiche potenzialmente responsabili della trasmissione all'uomo
- dichiarare "sicure" specie economicamente rilevanti
- fornire agli operatori coinvolti (pescatori, ristoratori, ASL, amministrazioni locali) indicazioni riguardo rischi e misure profilattiche



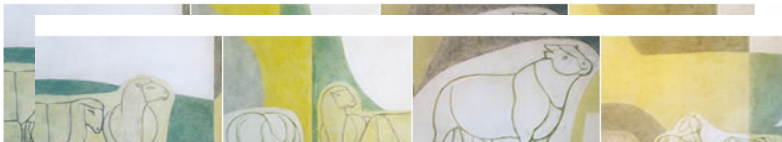
# Questionari

**Questionario pescatori professionisti**

**Questionario ristoratori**

**Questionario popolazione**

- Per quantificare:
  - Le variabili che possono concorrere alla diffusione ed al mantenimento del ciclo biologico del trematode ed esporre la popolazione a rischio di malattia
  - Il livello di conoscenza della parassitosi



# Indagine epidemiologica

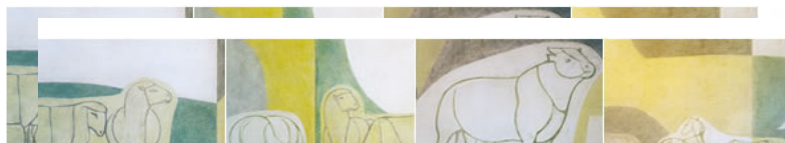
**Laghi di Bolsena e Bracciano**

**Periodo 2007-2008**

**Pesci: 894 esemplari di 12 specie**

**Carnivori: 87 campioni di feci di 5 specie**

**Molluschi: 4935 esemplari (esaminati in pool)**



# Materiali

II ospite intermedio

Osipite definitivo

I ospite intermedio

Specie		Esemplari esaminati		
		Bolsena	Bracciano	Totale
Carassio	<i>Carassius carassius</i>	34	5	39
Carpa	<i>Cyprinus carpio</i>	35	6	41
Coregone	<i>Coregonus sp.</i>	254	13	267
Lasca	<i>Chondrostoma genei</i>	18	0	18
Latterino	<i>Atherina boyeri</i>	6	129	135
Luccio	<i>Esox lucius</i>	15	2	17
Persico reale	<i>Perca fluviatilis</i>	19	2	21
Persico sole	<i>Lepomis gibbosus</i>	46	20	66
Persico trota	<i>Micropterus salmoides</i>	24	16	40
Pesce gatto	<i>Ictalurus melas</i>	91	2	93
Scardola	<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	14	12	26
Tinca	<i>Tinca tinca</i>	44	87	131
Gatto				56
Cane				13
Volpe	<i>Vulpes vulpes</i>			7
Nutria	<i>Myocastor coypus</i>			9
Ratto	<i>Rattus sp.</i>			2
	<i>Bithynia sp.</i>	351	4.632	4.983

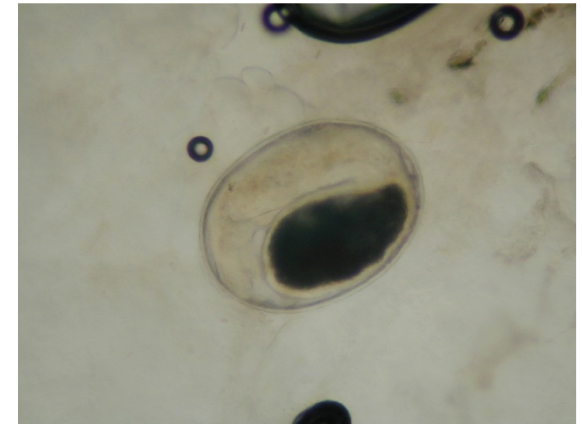




# Metodi

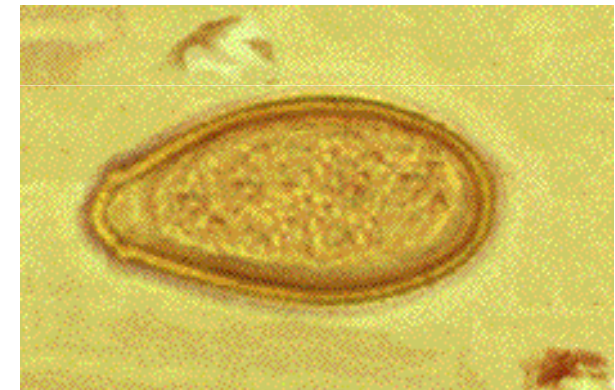
## Metacercarie da tessuto muscolare

- preparati per schiacciamento;
- digestione manuale (50g)



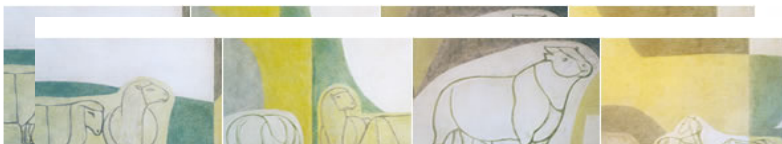
## Uova da feci

- Sedimentazione formolo/acetica



## Metodi Bio-Molecolari

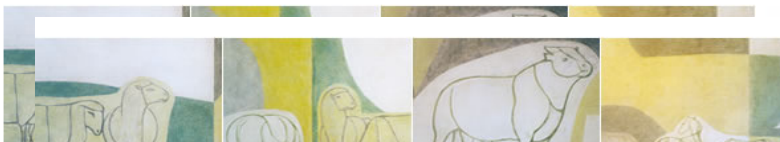
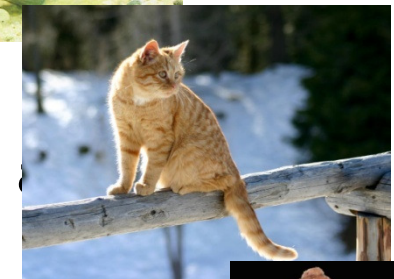
per conferma identificazione di specie



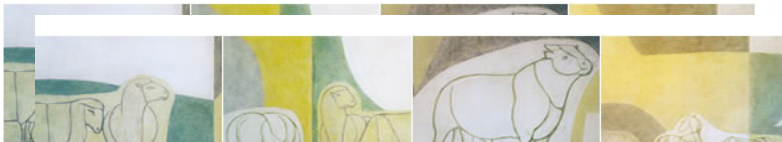
# Risultati

	Bolsena		Bracciano		Totale	
Specie	Prevalenza (%)	CI	Prevalenza (%)	CI	Prevalenza (%)	CI
<i>Bithynia</i> sp.	<u>0,6</u>	0,02-2,2	<u>0,04</u>	0,0-0,2	<u>0,08</u>	0,02-0,2
<i>Tinca tinca</i>	75,0	59,7-86,8	95,4	88,4-98,5	88,5	81,5-93,4
Gatto	<u>36,6</u>	22,1-53,1	<u>73,3</u>	47,6-89,5	<u>46,4</u>	33,0-60,2

- **Tinca** unica specie ittica positiva (alte prevalenze)
- **Gatto** unico ospite definitivo positivo
- Prevalenze nella tinca e nel gatto significativamente più alte a **Bracciano** (OR = 7.5; 4.8)
- Gasteropodi del genere ***Bithynia*** confermati come I ospiti intermedi



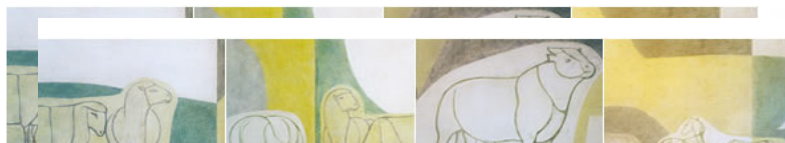
# Risultati questionario



# 1) OPERATORI DELLA PRODUZIONE PRIMARIA (PESCATORI):



- Il 68.4% (n=26; IC95% 0.52-0.83) degli intervistati ha dichiarato di catturare abitualmente pesci della specie *Tinca tinca*.
- Il 44.7% dei pescatori (n=17; IC95% 0.28-0.61) sottopone il pesce a manipolazioni dopo la cattura (soprattutto eviscerazione)
- Il 92,1% (n=35; IC95% 0.83-1.01) dei pescatori smercia il pesce alla piccola e grande distribuzione
- Il 28.9% degli operatori (n=11; IC95% 0.13-0.44) vende direttamente piccole quantità di prodotto



## 2) OPERATORI DELLA DELLA PRODUZIONE POST-PRIMARIA (RISTORATORI):



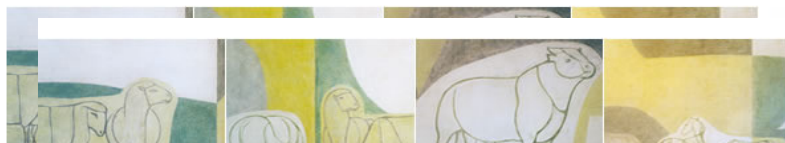
- L'87% (n=27; IC95% 0.74-0.99) cucina piatti a base di pesce d'acqua dolce soprattutto coregone (n=25; 92.5% ; IC95% 0.82-1.03) e persico (n=18; 66.6% IC95% 0.47-0.85)

- **la tinca viene servita dal 25.9% (n=7; IC95% 0.08-0.43)**

- I pesci provengono principalmente da bacini locali (n=25; 92.6%) o comunque regionali (n= 5; 18.5%) e vengono serviti principalmente **arrosto** (n=25; 92.5%; IC95% 0.82-1.03 ) e **fritti** (n=20; 74.0%; IC95% 0.56-0.91)

- **Il 33.3% (n=9; IC95% 0.14-0.52) propone ai clienti *cruditès* a base di pesce.**

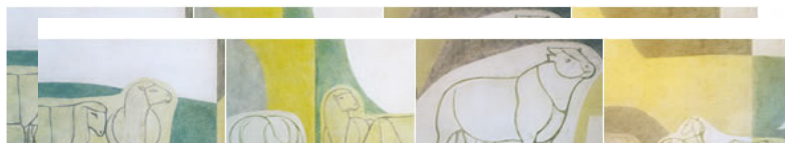
- Tra le specie ittiche vendute crude, la principale risulta essere il Coregone mentre, per quanto concerne le tecniche di preparazione, il carpaccio è la più utilizzata. **Nessun operatore dichiara di servire tinca cruda.**







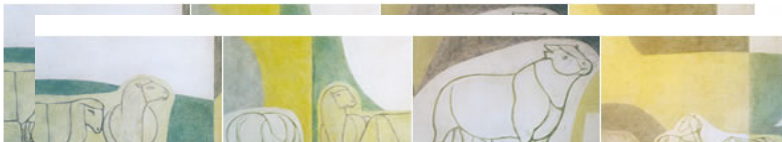
La quasi totalità dei ristoratori che cucina *crudità* a base di pesce (88.8%), afferma di **non aver previsto delle procedure particolari per queste pietanze, nel piano di autocontrollo!!!!**



### 3) RESIDENTI IN PROVINCIA DI VITERBO:



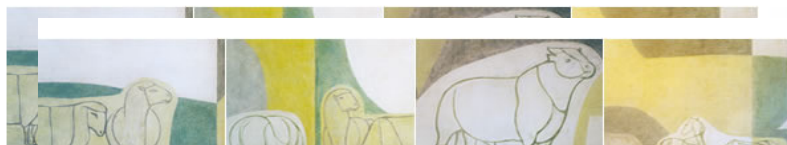
- Il 37.7% degli intervistati (n=20; IC95% 0.24-0.51) ha mangiato pesce di acqua dolce almeno una volta nell'anno precedente all'intervista
- Le specie più consumate sono : Coregone (50%), **Tinca (30 %)**, Lattarino (15%) e Persicotrota (10.0%),
- preferenza per i prodotti arrosto (50%), fritti (35%) o in umido (15%). **No crudi**
- Il consumo è avvenuto soprattutto al ristorante (50.0%) ed in casa propria (45 %) o di amici (20%)





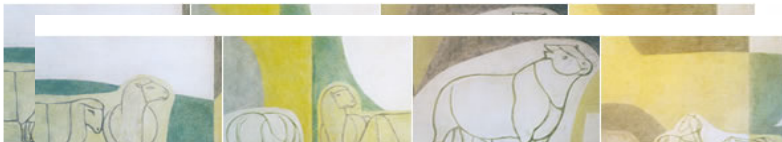
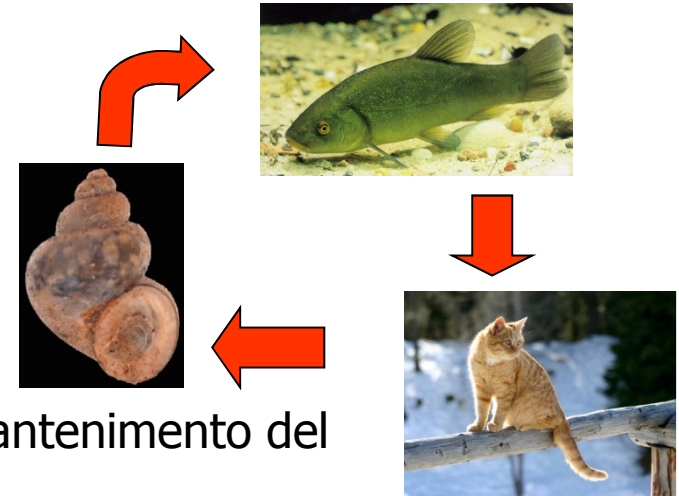
Infine relativamente alle aree tematiche comuni dei tre questionari:

- conoscenza dei casi di malattia, delle modalità di trasmissione e del ciclo biologico del trematode insufficiente soprattutto per ristoratori e residenti
- gestione degli animali domestici: **liberi di uscire** (pescatori: 70.0%; Ristoratori: 68.7%; Popolazione: 70.4%) ed **alimentati con resti di cucina** (pescatori: 35% ; ristoratori: 37.5%; popolazione: 18.5%)



# Conclusioni/1

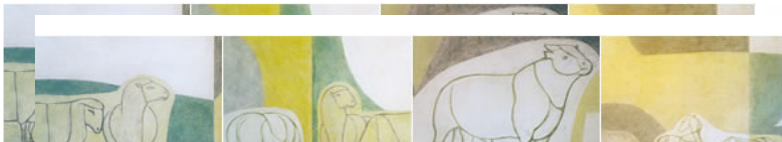
1. Definito l'intero ciclo del parassita nell'area di studio:
  1. Tinca 2° ospite intermedio responsabile del mantenimento del ciclo, a rischio per il consumo umano;
  2. Coregone non interessato dall'infestazione e pertanto "sicuro"
  3. Gatto ospite definitivo coinvolto nel ciclo;
2. Laghi con rapide variazioni del livello dell'acqua che favoriscono la sommersione di escrementi depositi sulle sponde
3. Prevalenze alte indicherebbero un ciclo ben radicato
4. Digestione tecnica più sensibile per la ricerca delle metacercarie nel pesce.



# Intanto.....

## Dicembre 2009

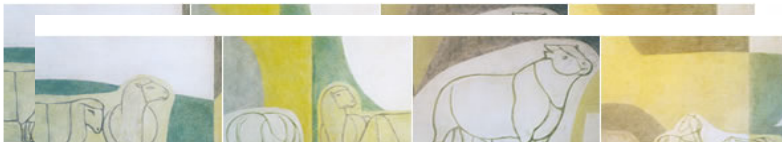
- Nuovo focolaio umano in seguito a consumo di tinca marinata a Bomarzo (Vt), durante una manifestazione pubblica (20 casi accertati)
- I gestori del catering si erano approvvigionati direttamente da un pescatore di Bolsena
- Inosservanza delle prescrizioni
- Diagnosi tardiva (Maggio 2010)





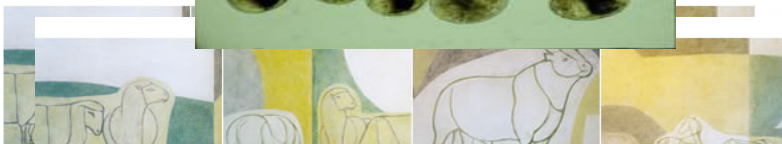
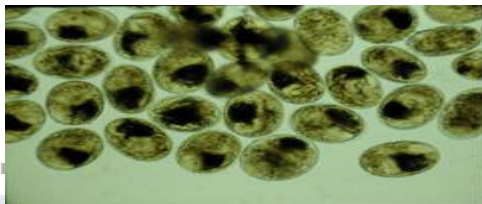
## **Agosto 2010**

- Allarme europeo da nuovi casi umani diagnosticati in Olanda (turisti italiani)
- Origine: tinche provenienti da Bolsena ma consumate ad Aosta
- Indagine: accertati altri 80 casi
- Pesce distribuito da due grossisti di Rovigo e Rovereto
- Perdita dell'informazione e delle prescrizioni lungo la catena commerciale



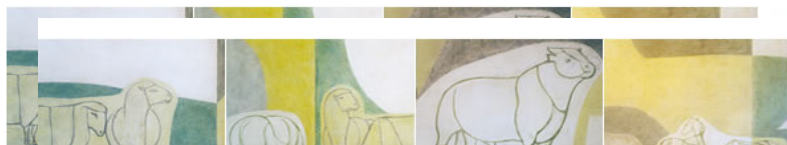
## Conclusioni/2

1. Difficoltà azioni di controllo e di intervento terapeutico-profilattico (ciclo prevalentemente "selvatico", problema colonie feline)
2. Campagna informativa presso gli operatori sanitari solo parzialmente efficace (diagnosi tardiva casi del focolaio 2009)
3. Necessità maggiore informazione e divulgazione non solo locale
4. Necessità di identificare idonei sistemi di risanamento
5. Permanenza del rischio a livello di ristorazione:
  - tendenza ad offrire piatti a base di pesce crudo
  - piatti a base di più specie ittiche



# Riflessioni

L'approccio multidisciplinare a questa zoonosi emergente ha consentito, in un tempo relativamente breve, studiare la **biologia del parassita**, di conoscere i principali **fattori di rischio per la popolazione**, di intervenire a livello locale con misure di **contenimento del rischio** immediate e di acquisire le informazioni per indirizzare ulteriori azioni finalizzate alla prevenzione.



**IIZZSS**

**Regioni**

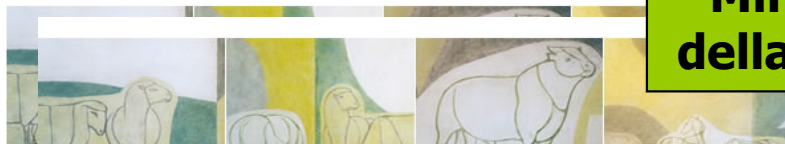
**Ricerca**

**Intervento  
sanità  
pubblica**

**ISS**

**Ministero  
della salute**

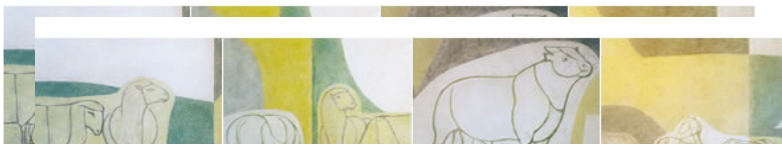
**ASL**



# EFSA Scientific opinion

EFSA Journal 2010; 8(4):1543

There is more information on the resistance to physical and chemical treatments by *A. simplex* than for other fishery parasites. The properties of *A. simplex* are likely to be similar to that of other multicellular parasites (**although trematode metacercariae are considerably more heat resistant**), and information on other genera and species of organism will be given where available.



# Conditions reported for successful killing of parasites **other than anisakids** in fishery products

Parasite	Treatment	Parameters	Reference
Diphyllobothrium spp.	freezing	-18 for 24 h	Salminen, 1970
Diphyllobothrium spp.	heating	> 56 °C	
<b>Opisthorchis spp.</b> <b>Clonorchis spp.</b>	<b>freezing</b>	<b>- 10 for 5 days</b>	WHO, 1979
<b>Opisthorchis spp.</b>	<b>salting</b>	<b>13,6 % NaCl for 24 h</b>	Kruatrachueet al, 1982
<b>Trematode metacercarie</b>	<b>heating</b>	<b>50 °C for 5 h; 70 °C for 30 min</b>	Waigakul, 1974
Trematode metacercarie	irradiation	0.15-0,5 kGy	Bhaibulaya, 1985; Chai et al, 1993

