

Opisthorchis nelle produzioni ittiche dei laghi laziali

De Liberato C¹, Scaramozzino P¹, Micci M¹, Lorenzetti R¹, Amiti S¹, Dell'Aira E¹, Amoruso C¹, Fanelli R¹, Di Cave D², Reali A², Palazzetti M³, Berrilli F², Condoleo R¹, Marozzi S¹, Martini E³, Micarelli G³, Lucangeli C⁵, Brozzi A¹, Aquilani S⁴, Bossù T¹

¹*Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Roma;*

²*Dipartimento di Sanità Pubblica e Biologia Cellulare, Università di Roma Tor Vergata;*

³*ASL VT2, Viterbo*

⁴*ASL Viterbo – Dipartimento di prevenzione*

⁵*ASL RMF*



Opisthorchiasi: distribuzione 18 milioni di persone

O. viverrini

Tailandia

Laos

Cambogia

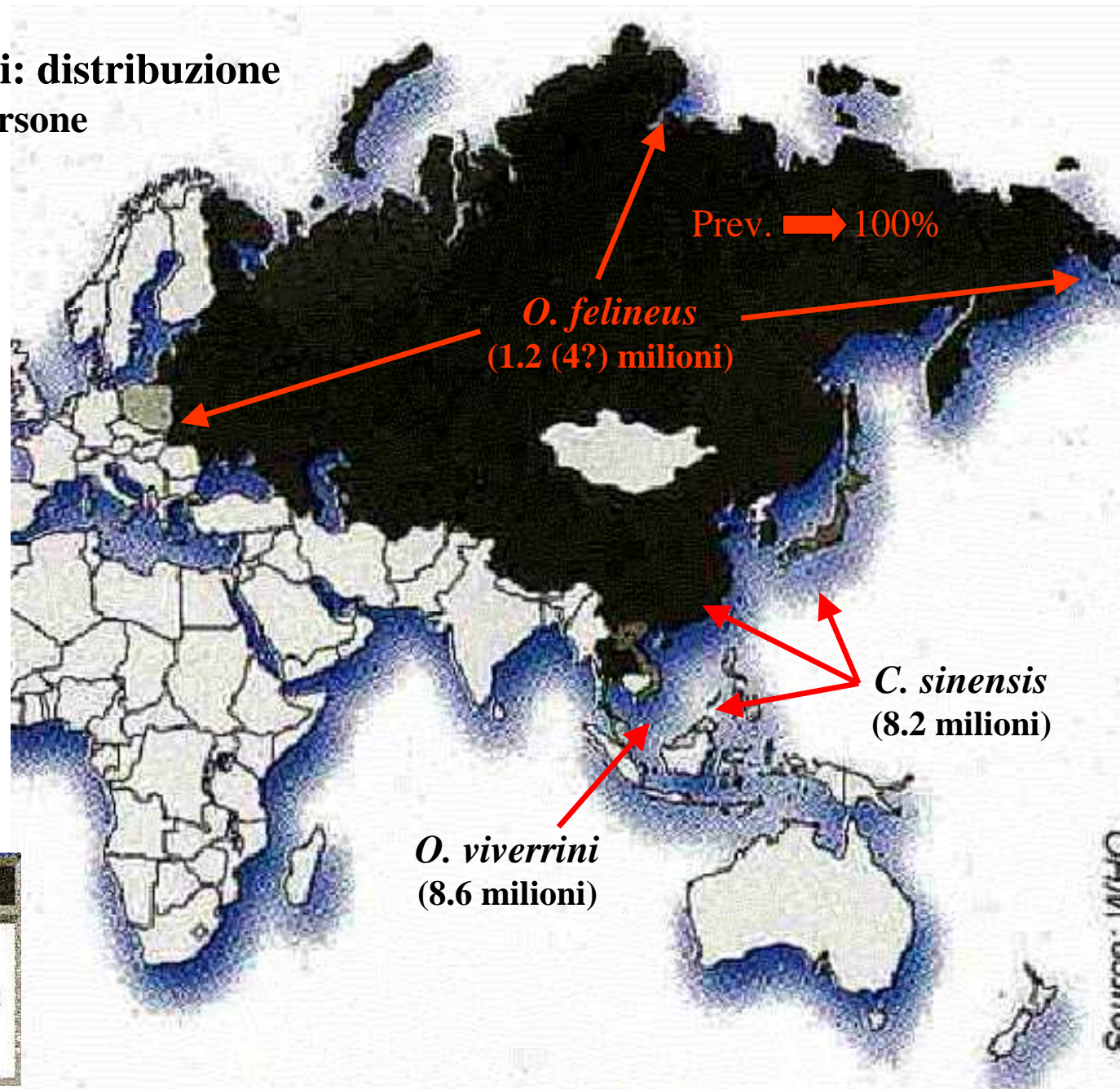
C. sinensis

Corea

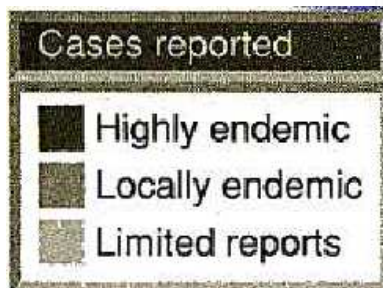
Cina

Taiwan

Vietnam



Source: WHO



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)



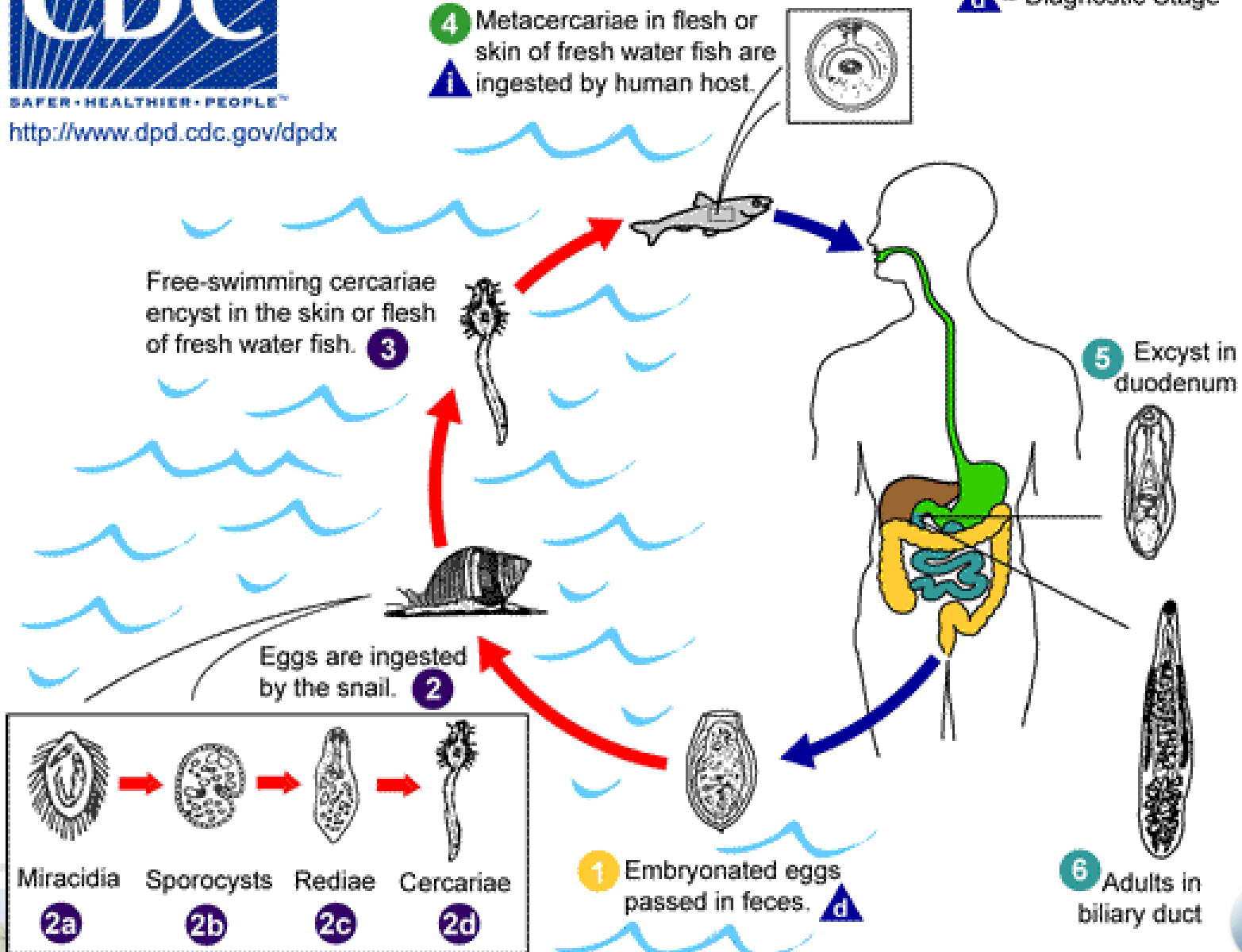
Opisthorchis felineus ciclo



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 popolazione: per valutare il grado di conoscenza del fenomeno e l'efficacia delle campagne informative

– Inoltre:

Questionario pescatori professionisti

Questionario ristoratori

– Per quantificare la frequenza di comportamenti e pratiche professionali a rischio



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

Ospite 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

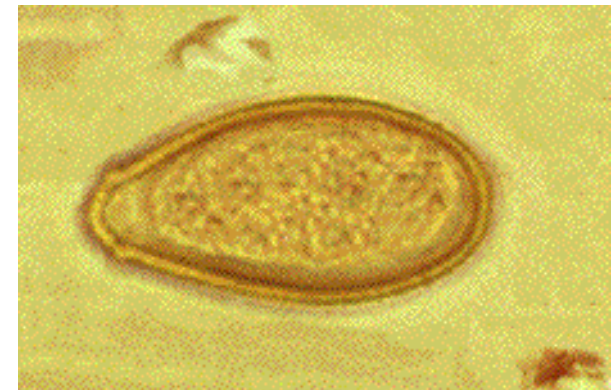
Metacercarie da tessuto muscolare

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



Uova da feci

- Sedimentazione formolo/acetica



Metodi Bio-Molecolari

per conferma identificazione di specie



Metodi Bio-Molecolari

- **Conferma identificazione di metacercarie e uova e individuazione positività nei molluschi mediante PCR, con un protocollo in grado di amplificare una regione dell'ITS-2 dell'rDNA di tutte le specie appartenenti alla famiglia Opisthorchidae**
- **successivamente gli amplificati sono stati sequenziati, assemblati con software SEQMAN e confrontati con sequenze depositate in GenBank tramite nBLAST**
- **analizzati solo i gasteropodi del genere *Bithynia*, divisi in pool di 20-40 esemplari**



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

53 rispondenti tra la popolazione

55% femmine, età media 43 anni

85% conoscenza fenomeno nulla o scarsa

75% non sa come avviene l'infestazione

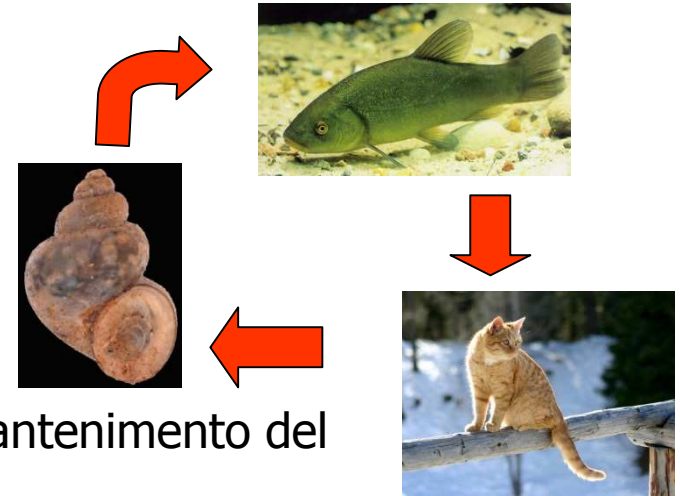
38% dichiara di aver mangiato pesce di lago nell'ultimo anno (7/20 hanno mangiato tinca)

Di questi il 10% (2/20) lo ha consumato affumicato. Nessuno crudo fresco.



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 deposti 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

AGOSTO 2011 GRADOLI

ALTRO FOCOLAIO CONSUMO DI carpaccio di «coregone»

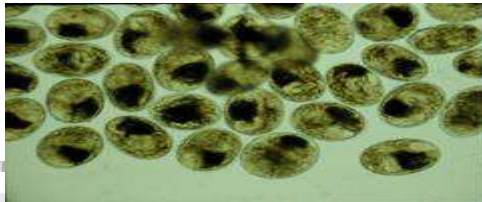
Nuovo allarme europeo

Coinvolte 72 persone



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

Università

Ricerca

**Intervento
sanità
pubblica**

(2012 piano di
monitoraggio
regione Lazio)

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	
Opisthorchis spp. Clonorchis spp.	freezing	- 10 for 5 days	WHO, 1979
Opisthorchis spp.	salting	13,6 % NaCl for 24 h	Kruatrachueet al, 1982
Trematode metacercarie	heating	50 °C for 5 h; 70 °C for 30 min	Waigakul, 1974
Trematode metacercarie	irradiation	0.15-0,5 kGy	Bhaibulaya, 1985; Chai et al, 1993

