



UNIVERSITÀ DI PARMA

Dipartimento di Scienze Medico-Veterinarie

Corso di Laurea Magistrale a Ciclo Unico in Medicina Veterinaria

Gestione dei parassiti nei prodotti della pesca: il genere *Dibothriocephalus*

Parasite management in fish products: the genus *Dibothriocephalus*

Relatore:

Chiar.ma Prof.ssa Silvia Bonardi

Correlatore:

Dott. Renato Maria Malandra

**Laureando:
Giovanni Colzani**

Anno Accademico 2022-2023

Sommario	
Riassunto.....	4
Abstract	6
1 Introduzione.....	8
2 I parassiti nei prodotti della pesca	13
2.1 Parassiti non zoonosici	14
2.1.1 <i>Pennella</i> spp.....	14
2.1.2 <i>Trypanorhyncha</i> spp.....	16
2.1.3 Mixosporidi	16
2.1.4 Microsporidi	17
2.1.5 <i>Gymnorynchus gigas</i>	18
2.2 Parassiti zoonosici	19
2.2.1 <i>Anisakidae</i>	20
2.2.2 <i>Opisthorchis felineus</i>	25
2.2.3 <i>Opisthorchis viverrini</i>	27
2.2.4 <i>Clonorchis sinensis</i>	27
2.2.5 <i>Eustrongylides</i> spp.	29
3 Il genere <i>Dibothriocephalus</i>	32
3.1 Ciclo vitale.....	34
3.2 <i>Dibothriocephalus latus</i>	36
3.3 <i>Dibothriocephalus nihonkaiensis</i>	37
3.4 <i>Dibothriocephalus dendriticus</i>	37
3.5 I prodotti a rischio.....	38
3.5.1 <i>Perca fluviatilis</i>	48
3.5.2 <i>Gymnocephalus cernua</i>	48
3.5.3 <i>Lota lota</i>	49
3.5.4 <i>Esox lucius</i>	50

3.6 La situazione epidemiologica in Italia.....	51
4 La malattia nell'uomo.....	54
4.1 Diagnosi.....	55
4.2 Prognosi e complicazioni	56
4.3 Terapia.....	57
4.4 Casi clinici.....	58
4.4.1 Il caso dei filetti di pesce persico, Lago di Ginevra, Svizzera	58
4.4.2 Il caso del salmone del Pacifico, Cannes, Francia	59
4.4.3 Il caso del salmone del Pacifico, Île-de-France, Francia	60
4.4.4 Il caso del salmone del Pacifico, tra Svizzera e Giappone	61
4.4.5 Il caso della Spagna	62
4.4.6 Il caso di importazione da Bali o Singapore, Svizzera	63
4.4.7 Il caso del <i>ceviche</i> peruviano, Stati Uniti	64
4.4.8 Il caso da <i>sashimi</i> di tonno e salmone, Giappone	65
4.4.9 Il caso del marinaio “assaggiatore avventuroso”, Stati Uniti	66
4.4.10 Il caso nel bambino di 18 mesi, Canada.....	67
5 Gestione della parassitosi da <i>Dibothriocephalus</i> spp.	69
5.1 Il Regolamento (CE) 2074/2005.....	69
5.1.1 Piano di campionamento	71
5.2 Bonifica sanitaria.....	72
6 Discussione	75
7 Conclusioni.....	78
8 Bibliografia.....	80

Riassunto

Negli ultimi anni in UE si è assistito ad un costante aumento dei casi di focolai epidemici associati al consumo di prodotti di origine animale. Solo in Italia nel periodo 2018-2022 sono stati segnalati ben 107 focolai epidemici legati al consumo di pesce e prodotti della pesca. Nonostante per le loro caratteristiche intrinseche spesso non siano causa di focolai epidemici veri e propri, ma piuttosto di casi sporadici, i parassiti delle specie ittiche sono oggetto di preoccupazione per la salute della popolazione.

Tra i parassiti delle specie ittiche sono compresi i parassiti non zoonosici (*Pennella* spp., *Trypanorhyncha* spp., Mixosporidi, Microsporidi e *Gymnorynchus gigas*) e zoonosici (*Anisakidae*, *Opisthorchis* spp., *Clonorchis sinensis*, *Eustrongylides* spp. e *Dibothriocephalus* spp.). I parassiti non zoonosici non causano malattia nell'uomo, ma il deprezzamento dei prodotti infestati e la loro esclusione dal consumo in quanto rendono l'alimento inadatto al consumo umano, come stabilito dal Regolamento (CE) 178/2002, articolo 14, comma 2, lettera b.

I parassiti zoonosici sono invece causa di malattia nell'uomo e, pertanto, sono normati da Regolamenti comunitari (Reg. (CE) 853/2004, Reg. (CE) 2074/2005 e Reg. (CE) 1276/2011) e linee guida nazionali che, quando applicati correttamente, prevengono l'infestazione nel consumatore.

Va inoltre ricordato che l'articolo 5 della Legge 283/1962 prevede, alla lettera d, l'ipotesi contravvenzionale penale dell'operatore del settore alimentare (OSA) che, non rispettando i già menzionati Regolamenti, impieghi nella preparazione di alimenti, venda, detenga per vendere, somministri ai propri dipendenti o comunque distribuisca per il consumo sostanze alimentari che siano invase da parassiti.

I parassiti appartenenti al genere *Dibothriocephalus* sono dei cestodi parassiti di pesci marini e dulciacquicoli presenti anche sul territorio nazionale italiano (*Esox lucius*, *Gymnocephalus cernua*, *Lota lota*, *Perca fluviatilis*) e sono causa della malattia nell'uomo nota come difillobotriasi o botriocefalosi intestinale. La malattia in genere si manifesta con dolori addominali, diarrea, malessere generale, mialgia, vertigini, anemia, colecistite, colangite e, in caso di infestazioni massive, occlusione intestinale.

L'uomo viene infestato attraverso il consumo carne di pesce parassitata cruda o poco cotta. Il paziente può accorgersi dell'infestazione notando la presenza di proglottidi nelle feci o

sottoponendosi in seguito ai sintomi riscontrati ad esami copromicroscopici che confermino la presenza delle uova di *Dibothriocephalus* spp.

La prognosi è generalmente fausta e la terapia di scelta si basa sull'utilizzo di praziquantel e niclosamide.

Alla luce delle caratteristiche biologiche del parassita, delle sue aree endemiche, delle particolarità della malattia, della costante espansione del mercato ittico mondiale e del fenomeno del "turismo culinario", i parassiti appartenenti al genere *Dibothriocephalus* vanno considerati un pericolo concreto per la salute pubblica nel territorio italiano ed europeo.

Abstract

The number of outbreaks associated with the consumption of products of animal origin steadily increased in the EU in recent years. In Italy, as many as 107 epidemic outbreaks linked to the consumption of fish and fishery products were reported in the year period 2018-2022. Despite that parasites of fish species, due to their intrinsic characteristics, do not often cause epidemic outbreaks, but most often are responsible for sporadic cases, they are of concern for human.

*Parasites of fish include non-zoonotic (*Pennella* spp., *Trypanorhyncha* spp., *Myxosporidae*, *Microsporidae* and *Gymnorynchus gigas*) and zoonotic (*Anisakidae*, *Opisthorchis* spp., *Clonorchis sinensis*, *Eustrongylides* spp. and *Dibothriocephalus* spp.) species. Non-zoonotic parasites do not cause illness in humans, but depreciate infested products and exclude them from consumption as they render the food unfit for human consumption, as set in Regulation (EC) 178/2002, article 14, subsection 2, letter b.*

Zoonotic parasites, on the other hand, cause disease in humans and are therefore regulated by EU regulations (Regulation (EC) 853/2004, Regulation (EC) 2074/2005 and Regulation (EC) 1276/2011) and national guidelines which, when applied correctly, prevent infestations in the consumer.

It should also be recalled that Article 5 of Italian Law 283/1962 establishes, under letter d, the criminal offence of the food business operator (FBO) who failing to comply with the aforementioned Regulations, uses in the preparation of food, sells, holds for sale, gives to his employees or in any case distributes for consumption foodstuffs that are invaded by parasites.

*The parasites belonging to the genus *Dibothriocephalus* are cestodes of marine and freshwater fish that are also present in Italy (*Esox lucius*, *Gymnocephalus cernua*, *Lota lota*, *Perca fluviatilis*) and cause the human disease known as diphyllobotriasis or intestinal botryocephalosis. The disease usually manifests itself with abdominal pain, diarrhoea, general malaise, myalgia, dizziness, anaemia, cholecystitis, cholangitis and, in the case of massive infestations, intestinal obstruction.*

Humans become infested through the consumption of raw or undercooked parasitised fish meat. The patient may become aware of the infestation by noticing the presence of

proglottids in faeces or by undergoing copro-microscopic examinations following the symptoms to confirm the presence of parasite eggs.

The prognosis is generally favourable, and the therapy of choice is based on the use of praziquantel and niclosamide.

*In the light of the biological characteristics of the parasite, its endemic areas, the particularities of the disease, the constant expansion of the world fish market and the phenomenon of “culinary tourism”, the parasites belonging to the genus *Dibothriocephalus* must be considered a real threat to public health in Italy and Europe.*

1 Introduzione

Sulla base dell'ultimo report sulle zoonosi nell'Unione Europea, comprese quelle a trasmissione alimentare, pubblicato dall'European Food Safety Authority (EFSA ed ECDC, 2023c), si può notare come i focolai epidemici, definiti come eventi in cui due o più persone sviluppano la stessa malattia o infezione in seguito al consumo dello stesso prodotto alimentare, siano aumentati del 43,9% nel 2022 rispetto all'anno precedente arrivando a toccare la quota di 1,3 focolai/100.000 persone.

I patogeni maggiormente associati ai focolai epidemici sono stati *Salmonella* spp., responsabile del 17,6% dei focolai e di oltre la metà del totale delle ospedalizzazioni (50,5%), e Norovirus, responsabile del maggior numero di casi umani verificatisi in un elevato numero di focolai (15%) (EFSA ed ECDC, 2023b).

Anche l'Italia presenta negli ultimi anni un trend in aumento del numero di focolai segnalati ed è, insieme alla Spagna, il paese in cui è segnalato il maggior numero di casi associati a viaggi all'estero (EFSA ed ECDC, 2023c).

In Europa ogni anno si consumano 23,97kg/abitante di pesce pescato ed allevato e, in Italia, questo dato sale a 31,21kg/abitante, garantendoci il sesto posto in questa singolare classifica (Commissione Europea, 2022).

In virtù di questi dati è però bene ricordare che, nonostante il consumo di carne di pesce abbia indubbi risvolti positivi sulla salute della popolazione, non è un alimento esente da rischi. Questi rischi comprendono contaminazioni da virus, batteri, parassiti, metalli pesanti e contaminanti ambientali, i quali possono avere un significativo impatto sulla sicurezza degli alimenti e la salute dell'uomo.

I focolai epidemici legati al consumo pesce e prodotti della pesca in Italia, nel periodo 2018-2022, sono cinque, con 107 casi di malattia e 2 ospedalizzazioni; tra questi la maggior parte sono stati causati dall'intossicazione da istamina o sindrome sgombroide (36%), seguita da infezione da Norovirus e altri Calicivirus (24%), cause non identificate (24%), altri agenti batterici (8%), *Clostridium botulinum* (4%) e tossine di *Staphylococcus aureus* (4%) (EFSA ed ECDC, 2023a).

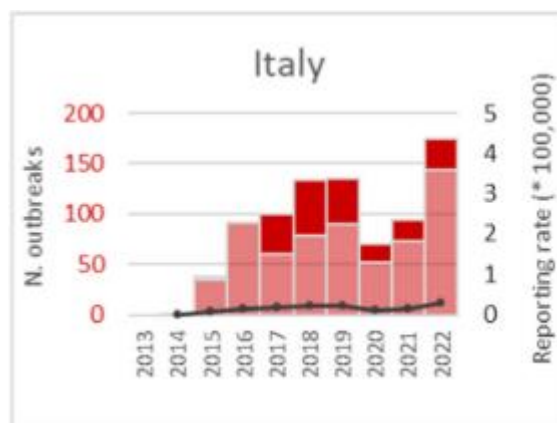


Grafico 1: Numero di focolai legati al consumo di prodotti di origine animali riportati in Italia 2013-2022 (EFSA ed ECDC, 2023c)

Più in generale, i virus veicolati da alimenti contenenti pesce o prodotti ittici, sono:

- Virus che provocano gastroenteriti: Rotavirus, Adenovirus, Norovirus e Sapovirus;
- Virus dell’epatite a trasmissione oro-fecale: virus dell’epatite A e virus dell’epatite E;
- Virus che replicano nell’intestino umano ma provocano patologie in altri organi, quali il sistema nervoso centrale o il fegato (Enterovirus) (Orban *et al.*, 2012).

Tra i batteri maggiormente causa di patologie nell’uomo ricordiamo:

- *Clostridium botulinum*: causa grave malattia nervosa determinata dal blocco del rilascio dell’acetilcolina;
- *Listeria monocytogenes*: colpisce generalmente individui immunocompromessi, donne gravide (in cui può causare aborto) e neonati. È causa di meningite, setticemia, endocarditi, infezioni polmonari, artriti ed osteomieliti;
- *Staphylococcus aureus*: causa vomito, diarrea e debolezza in assenza di febbre;
- *Salmonella* spp.: determina i classici sintomi di infezione gastroenterica con nausea, vomito, febbre, diarrea e prostrazione;
- *Escherichia coli*: i ceppi patogeni provocano diarrea, dolori addominali e febbre, mentre lo stipite produttore di Shiga tossine (STEC) O157:H7 e altri STEC sono responsabili di colite emorragica e sindrome emolitico-uremica (Arcangeli *et al.*, 2003; Orban *et al.*, 2012).

Questi batteri possono essere presenti nelle acque contaminate, su superfici di lavoro e attrezzature non correttamente sanificate o essere presenti in preparazioni sott’olio, gastronomiche e prodotti affumicati (Orban *et al.*, 2012).

Notevole importanza hanno anche le biotossine algali, la cui intossicazione nell'uomo è principalmente legata al consumo di molluschi bivalvi in grado di assimilare e accumulare le tossine dall'acqua dove sono allevati o pescati.

Le più importanti forme cliniche legate all'assunzione di biotossine marine sono le seguenti:

- *Paralytic shellfish poisoning (PSP)*: causata dalla saxitossina. In Europa, i Paesi maggiormente a rischio sono quelli sulla costa dell'Atlantico del Nord. La sintomatologia è di tipo paralitico; inizia con formicolio e bruciore alle labbra, senso di pesantezza agli arti, astenia, atassia, nausea e vomito e può arrivare, nei casi più gravi, alla morte (Arcangeli *et al.*, 2003; Orban *et al.*, 2012).
- *Amnesic shellfish poisoning (ASP)*: causata dall'acido domoico rilasciato dalle alghe diatomee in fioritura. Anche in questo caso i Paesi più a rischio sono quelli del Nord Europa. L'intossicazione determina sintomi che spaziano da disturbi gastrointestinali ad effetti neurotossici come allucinazioni, perdita di memoria e coma (Jeffery *et al.*, 2004; Orban *et al.*, 2012).
- *Diarrhetic shellfish poisoning (DSP)*: causata dall'acido okadaico e suoi derivati prodotti da microalghe planctoniche presenti anche nel Mar Adriatico. In Italia il primo caso è stato segnalato nel 1989. La malattia è, generalmente, a carattere enterico con diarrea, dolori addominali e vomito (Arcangeli *et al.*, 2003; Orban *et al.*, 2012).

L'istamina è responsabile della cosiddetta "sindrome sgombroide" o intossicazione da istamina. Questa molecola si forma quando pesci delle famiglie *Clupeidae*, *Engraulidae*, *Scombridae*, *Coryphaenidae*, *Pomatomidae* e *Scomberesocidae* vengono mal conservati e colonizzati da alcune specie batteriche (*Proteus vulgaris*, *E. coli*, *Salmonella* spp., *Acinetobacter* spp. etc.) in grado di convertire l'istidina in istamina attraverso l'enzima istidina decarbossilasi (Orban *et al.*, 2012).

Le successive cotture, affumicature o inscatolamento non eliminano la tossina prodotta che, nel consumatore finale, in relazione alla quantità di prodotto consumato e alla concentrazione di istamina presente, causa rash cutaneo, nausea, vomito, diarrea e crampi addominali (Orban *et al.*, 2012).

Esiste poi il fenomeno della contaminazione chimica attraverso vari elementi inorganici presenti in natura come mercurio, arsenico, cadmio, piombo e idrocarburi poliaromatici. Di seguito vengono indicati i principali metalli pesanti e prodotti chimici responsabili di intossicazione nel consumatore di prodotti della pesca.

- Mercurio: le maggiori concentrazioni di questo elemento si riscontrano nei pesci predatori (ad esempio, tonni e pesci spada) che si distinguono per l'elevato bioaccumulo di metilmercurio. L'intossicazione acuta determina manifestazioni neurologiche (tremori e ipereccitabilità) mentre la forma cronica si manifesta con sintomi a carico del Sistema Nervoso Centrale (neurologici e psichiatrici) accompagnati da stomatite e gengivite (Arcangeli *et al.*, 2003; Orban *et al.*, 2012).
- Arsenico: la sua concentrazione nei pesci è elevata ma generalmente in forme organiche non tossiche (arsenobetaina e arsenozuccheri). In genere sono più a rischio i molluschi bivalvi. L'intossicazione acuta determina astenia, tremori, diarrea e prostrazione fino al collasso; l'intossicazione cronica causa lesioni cutanee (melanosi ed ipercheratosi) e vascolari, fino alla comparsa di tumori alla pelle e al polmone (Arcangeli *et al.*, 2003; Orban *et al.*, 2012).
- Cadmio: generalmente accumulato in maniera notevolmente superiore dai molluschi, specialmente le ostriche. L'intossicazione nell'uomo determina proteinuria, aminoaciduria, glicosuria, riduzione dell'assorbimento tubulare dei fosfati, alterazioni epatiche, lesioni a carico dell'apparato riproduttivo maschile e danni a carico dell'embrione e del feto (Arcangeli *et al.*, 2003; Orban *et al.*, 2012).
- Piombo: le specie maggiormente a rischio sono molluschi bivalvi e crostacei. Gli effetti sull'uomo si dividono in avvelenamento acuto (disturbi a carico del Sistema Nervoso Centrale e dell'apparato gastroenterico) e cronico o saturnismo (disturbi all'apparato scheletrico, anemia, emolisi ed alterazione della crasi ematica (Arcangeli *et al.*, 2003; Orban *et al.*, 2012).
- Idrocarburi poliaromatici: generalmente riscontrati in specie di pesci che abitano le acque interne e quindi più esposte a contaminazioni antropiche (sversamenti di carburanti/oli nelle acque). Altre fonti di contaminazione sono rappresentate da processi di trasformazione o di trattamento dei prodotti alimentari, come cotture alla griglia o affumicatura (Orban *et al.*, 2012). Sono un gruppo di sostanze dotate di attività cancerogena/mutagena, in particolare possono provocare tumori cutanei per

contatto e tumori polmonari per via inalatoria (Ministero della Salute - Direzione Generale della Prevenzione Sanitaria, 2015).

- Diossine e i polibiclorofenili (PCB): riscontrati nel pesce pescato in aree contaminate oppure presenti nei tessuti di pesci allevati alimentati con farine e oli di pesce contaminati (Orban *et al.*, 2012). L'intossicazione nell'uomo provoca cloracne, alterazioni a carico del sistema immunitario (immunodepressione e ipersensibilizzazione), alterazioni a carico del feto, del sistema endocrino e della regolazione dei processi riproduttivi e di sviluppo (Ministero della Salute - Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici, 2006).

Le parassitosi saranno oggetto di trattazione nei capitoli successivi. I parassiti patogeni, in virtù delle loro caratteristiche, danno origine meno frequentemente a focolai epidemici ma rappresentano comunque un serio rischio per la salute umana.

2 I parassiti nei prodotti della pesca

Un parassita è definito in biologia come ogni animale o vegetale il cui metabolismo dipende, per tutto o per parte del ciclo vitale, da un altro organismo vivente, detto ospite, con il quale è associato più o meno intimamente e sul quale ha effetti dannosi (Treccani, 2003c).

L'opinione della *European Food Safety Authority* (EFSA) pubblicata il 14 aprile 2010 e riguardante la valutazione del rischio per parassiti nei prodotti della pesca (EFSA, 2010), sancisce che tutti i pesci pescati in libertà, marini o di acqua dolce, siano da considerarsi a rischio in quanto possono contenere parassiti vivi e vitali potenzialmente nocivi alla salute umana se destinati ad essere consumati crudi o praticamente crudi. Viene inoltre fatto riferimento a come, ad eccezione del Salmone (*Salmo salar*) allevato, non esistano dati per nessun'altra specie di pesce allevato e pertanto non sia possibile individuare quali specie allevate non presentino un rischio per la salute qualora le loro carni fossero consumate crude o praticamente crude.

Uno dei possibili punti deboli della catena è rappresentato dalle vendite o cessioni tra privati di piccoli quantitativi di prodotti ittici a rischio parassitosi, che sfuggono in tal modo all'autocontrollo degli operatori del settore ed al controllo ufficiale dell'Autorità Competente.

Inoltre, in alcuni paesi, come il Giappone, l'abitudine del consumatore a considerare migliori dal punto di vista organolettico le carni di pesce che non hanno subito trattamenti termici, unita ad una scarsa conoscenza dei rischi associati al consumo di prodotti crudi, va tenuta in considerazione nella valutazione dell'impatto che i parassiti possono avere sulla salute della popolazione (Ikuno *et al.*, 2018).

Dal punto di vista della localizzazione del parassita, possiamo identificare due grandi gruppi:

- Ectoparassiti: vivono all'esterno del corpo dell'ospite a cui però sono strettamente legati;
- Endoparassiti: vivono all'interno del corpo dell'ospite. Sono i più rilevanti dal punto di vista delle zoonosi, anche per la difficoltà nell'individuarli. Le varie specie di *Dibothriocephalus* appartengono a questa categoria (Fazio, 2011).

Inoltre, si possono fare ulteriori distinzioni sulla base di vitalità, pericolosità e numerosità nelle carni di pesce:

- Larve non devitalizzate di parassiti zoonosici: causano malattie nell'uomo a carico dell'apparato gastroenterico e degli organi interni o forme allergiche (orticaria, congiuntivite, gonfiore al volto o agli arti, artrite reumatica, asma e shock anafilattico) (Fazio, 2011);
- Larve devitalizzate di alcuni parassiti zoonosici (es. *Anisakis*): sono responsabili di forme allergiche nell'uomo (Fazio, 2011);
- Presenza massiva di parassiti non zoonosici: provocano modificazioni del tessuto muscolare, alterazioni dei caratteri organolettici e aspetto ripugnante del prodotto ittico (Fazio, 2011).

I parassiti vengono ulteriormente suddivisi a seconda della loro capacità o incapacità di causare malattia nell'uomo in altre due categorie: parassiti zoonosici e non zoonosici.

2.1 Parassiti non zoonosici

I parassiti non zoonosici alterano le caratteristiche organolettiche del prodotto ittico e suscitano ripugnanza nel consumatore. Inoltre, la loro presenza all'interno delle carni rende l'alimento inadatto al consumo umano in seguito a contaminazione da materiale estraneo, come stabilito dal Regolamento (CE) 178/2002, articolo 14, comma 2, lettera b (Commissione Europea, 2002).

Fra questi parassiti ricordiamo brevemente, in quanto più facilmente riscontrabili nell'attività di ispezione dei prodotti della pesca i seguenti: *Pennella* spp., *Trypanorhyncha* spp., Mixosporidi e Microsporidi.

2.1.1 *Pennella* spp.

I parassiti appartenenti al genere *Pennella* appartengono ai Copepodi, una sottoclasse del *subphylum Crustacea*.

Le femmine adulte del genere *Pennella* sono ematofaghe e, dopo essere state inseminate dal maschio, penetrano nei tessuti muscolari di pesci pelagici come Pesce spada (*Xiphias gladius*) (Figura 1 e 2) e varie specie di tonni (*Thunnus* spp.) al fine di produrre uova. Sono

facilmente individuabili in quanto la maggior parte del corpo fuoriesce dall'ospite. Causano lesioni ai tessuti muscolari dell'ospite con necrosi e cisti (Mugetti *et al.*, 2021).



Figura 1: Lesioni da *Pennella* spp. in trancio di Pesce spada (*Xiphias gladius*) (Malandra, 2023)



Figura 2: Esemplare di *Pennella* spp. in Pesce spada (*Xiphias gladius*) (Fazio, 2011)

2.1.2 *Trypanorhyncha* spp.

I parassiti che appartengono al genere *Trypanorhyncha* sono cestodi che, quando ingeriti dall'ospite intermedio, rappresentato da Pesce spada (*Xiphias gladius*), Marlin (*Tetrapturus* spp.) e cernie (*Epinephelus* spp.) ne invadono i tessuti muscolari incistandosi e giungendo allo stadio di plerocercio. Sono conosciuti anche come “vermi spaghetti” o “spaghetti worms” (Figura 3) (de Sales-Ribeiro *et al.*, 2021).

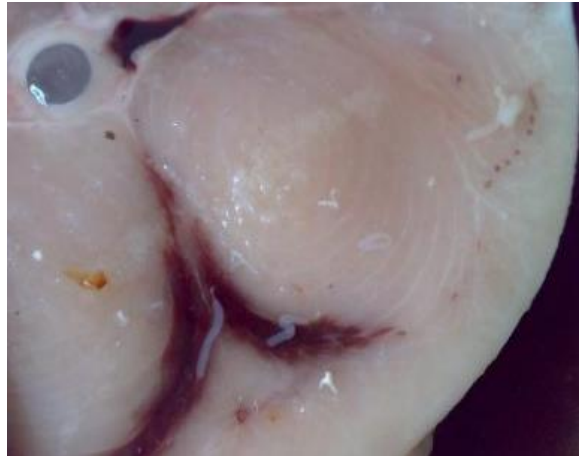


Figura 3: Esemplici di *Trypanorhyncha* spp. in trancio di Pesce spada (*Xiphias gladius*) (Fazio, 2011)

2.1.3 Mixosporidi

I Mixosporidi sono protozoi parassiti di pesci di acqua dolce e marina. Alcune specie sono parassite anche di anfibi, rettili e, raramente, invertebrati (Mackenzie e Kalavati, 2014).

Le specie celozoiche (in zoologia, riferito ad organismi che vivono, liberi o attaccati alle pareti, nelle cavità del corpo degli animali, Treccani, 2003a) si localizzano nella cistifellea o in ureteri ed uretra, mentre le specie istozoiche (in biologia, organismo parassita nei tessuti viventi di altri organismi, Treccani, 2003b) si localizzano principalmente all'interno delle cellule dei tessuti molli (Mackenzie e Kalavati, 2014).

Alcune specie istozoiche, tra cui *Kudoa* spp., sono responsabili della formazione di lesioni nodulari biancastre o marroni, di piccole dimensioni (<5mm), nella muscolatura di pesci della famiglia *Salmonidae* e dei generi *Scomber*, *Gadus*, *Lophius* e *Calotomus* (Figura 4) che causano la distruzione del tessuto muscolare attraverso la secrezione di una sostanza in grado di lisare le cellule muscolari (mioliquefazione *post mortem*). Queste alterazioni sono responsabili di danni economici nei prodotti della pesca (Fazio, 2011; Mackenzie e Kalavati, 2014).

Nonostante questi parassiti siano oggetto di ricerche da più di un secolo, solo un piccolo numero di specie sono state descritte e, tra queste, solo per alcune (sei in tutto) è in parte noto il ciclo vitale che si compie tramite spore rilasciate nell'acqua. Altre specie presentano un ciclo diretto pesce-pesce, altre ancora si servono di un ospite intermedio rappresentato da Oligocheti (Mackenzie e Kalavati, 2014).

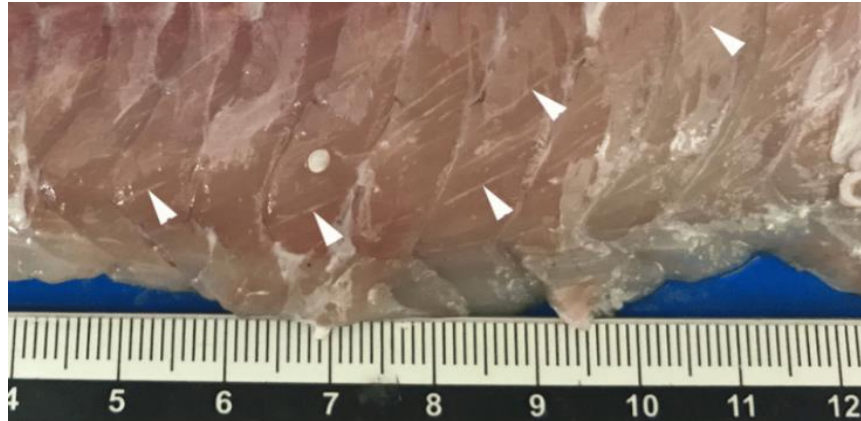


Figura 4: Xenomi di Microsporidi in filetto di Pesce pappagallo (*Calotomus carolinus*) (Sakai *et al.*, 2019)

2.1.4 Microsporidi

I Microsporidi sono protozoi parassiti intracellulari obbligati di pesci marini pescati o allevati; generalmente colpiscono rane pescatrici (*Lophius spp.*) e Orate (*Sparus aurata*). Accumulandosi e riproducendosi nelle cellule del sistema nervoso dell'ospite formano dei noduli biancastri di dimensioni variabili da alcuni millimetri a diversi centimetri di diametro (Figura 5), chiamati xenomi (Fazio, 2011; Llarena-Reino *et al.*, 2017).



Figura 5: Lesioni da microsporidi nella muscolatura di Rana pescatrice (*Lophius spp.*) (Meloni e Arca, 2015)

Il ciclo vitale è al momento sconosciuto ma l'infezione è stata dimostrata sperimentalmente per via intraperitoneale, intramuscolare, intravascolare o attraverso l'apertura anale (Llarena-Reino *et al.*, 2017).

In natura le vie più probabili di infestazione sono cannibalismo, predazione e attraverso l'ingestione di spore contenute nelle feci rilasciate in acqua (Llarena-Reino *et al.*, 2017).

Secondo Freeman e collaboratori (2011) nei pesci del genere *Lophius* è presente un *pattern* di distribuzione del parassita nelle cellule del sistema nervoso dell'ospite: in questi ospiti il sito primario di infestazione è rappresentato dal midollo allungato e, una volta che questo è infestato in maniera massiccia, vengono interessati i nervi spinali, il nervo vago ed il trigemino in tutta la loro lunghezza.

Nonostante l'ipertrofia del tessuto nervoso causata negli ospiti, non esistono evidenze scientifiche a sostegno di una potenziale patogenicità, neppure nei casi di infestazione massiva (Freeman *et al.*, 2004, 2011; Llarena-Reino *et al.*, 2017).

I microsporidi causano un danno economico, in quanto la loro presenza comporta l'esclusione del prodotto dal mercato poiché inadatto al consumo umano, come stabilito dal Regolamento (CE) 178/2002, articolo 14, comma 2, lettera b.

2.1.5 *Gymnorynchus gigas*

Gymnorynchus gigas è un cestode (Figura 6) il cui ciclo biologico è ancora perlopiù sconosciuto anche se, verosimilmente, il primo ospite è rappresentato da crostacei, molluschi, piccoli clupeidi o sgombri poiché costituiscono la dieta degli ospiti intermedi (López Celia *et al.*, 2001).

Gli ospiti secondari sono rappresentati da *Brama* spp., *Lepidopus caudatus*, *Diodon hystrix* e *Xiphias gladius* (Giarratana *et al.*, 2022; López Celia *et al.*, 2001; Muscolino *et al.*, 2012; Radhakrishnan *et al.*, 1983).

L'ospite finale è rappresentato da squali (o altri elasmobranchi) nel cui apparato gastrointestinale gli adulti del parassita si accoppiano e depongono le uova, che vengono poi rilasciate con le feci (López Celia *et al.*, 2001).

Il parassita, visibile ad occhio nudo date le notevoli dimensioni che può raggiungere in alcuni ospiti secondari (anche 1 metro), è individuabile a livello del tessuto muscolare dell'ospite. Quando il parassita è penetrato da poco nell'ospite è di colore bianco, quasi trasparente e tende a diventare giallastro con l'avanzare del tempo (López Celia *et al.*, 2001).



Figura 6: Esemplari di Pesce castagna (*Brama brama*) parassitati da *G. gigas* (Malandra, 2023)

Tra gli ospiti secondari più interessati dall'infestazione troviamo il Pesce castagna (*Brama raii* o *Brama brama*), in cui la prevalenza d'infezione può arrivare al 93,3%. Sono più interessati gli esemplari di sesso femminile, che hanno dimensioni e peso maggiori e sono quindi più richiesti dai consumatori (López Celia *et al.*, 2001).

Mentre nei pesci causa lisi del tessuto muscolare e idremia, il suo ruolo nell'uomo è dibattuto: secondo alcuni Autori è in grado di causare reazioni allergiche o di possedere una tossina la cui azione non è ancora nota, mentre per altri è innocuo (López Celia *et al.*, 2001; Vázquez-López *et al.*, 1999).

Ad oggi, l'unico dato certo su una possibile patogenicità del parassita si basa su uno studio che ha dimostrato la presenza di anticorpi anti-*G. gigas* nelle popolazioni della Spagna che consumano abitualmente pesci che possono esserne parassitati (Cuéllar *et al.*, 2009).

2.2 Parassiti zoonosici

Appartengono a questa categoria i parassiti capaci di causare malattia nell'uomo, come i parassiti del genere *Anisakis* spp. e *Dibothriocephalus* spp., oltre alle specie *Opisthorchis felinus*, *Opisthorchis viverrini*, *Clonorchis sinensis* ed *Eustrongylides* spp.

Il Regolamento (CE) 178/2002 all'articolo 14, comma 2, lettera a (Commissione Europea, 2002), stabilisce che i prodotti della pesca infestati da parassiti zoonosici siano considerati “alimenti a rischio” in quanto dannosi per la salute umana.

2.2.1 *Anisakidae*

I parassiti appartenenti alla famiglia *Anisakidae* (Figura 7) sono nematodi marini a distribuzione mondiale; a questa famiglia appartengono otto generi diversi comprendenti 46 specie differenti. Tra questi, i generi *Anisakis*, *Contracaecum* e *Pseudoterranova* sono considerati *Anisakidae sensu stricto* mentre, il genere *Histerothylacium*, è inserito in questa famiglia come *Anisakidae sensu lato* (Ángeles-Hernández *et al.*, 2020).

Histerothylacium spp. infatti, pur non appartenendo alla famiglia *Anisakidae* ma alla famiglia *Raphidascarididae*, condivide gli stessi ospiti intermedi ed è in grado di causare la malattia nell'uomo definita anisakiasi (tre casi al mondo segnalati al 2022). Queste caratteristiche hanno portato vari Autori a considerarlo come membro della famiglia *Anisakidae* o, della categorizzazione *Anisakidae sensu lato* (AlGabbani *et al.*, 2021; Fuentes *et al.*, 2022; Sola D, 2012).

Al genere *Anisakis* spp. appartengono nove specie morfologicamente simili, ma geneticamente distinte (Morozińska-Gogol, 2019).

I parassiti del genere *Anisakis* hanno come ospiti finali diverse specie di cetacei, *Histerothylacium* pesci teleostei, mentre *Pseudoterranova* e *Contracaecum* pinnipedi (Foca barbata e Foca grigia) (AlGabbani *et al.*, 2021; CDC, 2019a).



Figura 7: Larve di *Anisakis* spp. (Malandra, 2017)

Le specie più importanti per la salute umana sono:

- *A. simplex* s.s. presente nell'emisfero boreale (specialmente Atlantico del Nord);
- *A. pegreffii* diffuso nell'Atlantico Centrale e nel Mediterraneo;
- *A. physeteris* diffuso nell'Atlantico e Mediterraneo;
- *A. berlandi* diffuso nel Pacifico e nelle regioni antartiche (Morozíńska-Gogol, 2019).
- *Pseudoterranova decipiens complex*: diffuso nelle acque costiere del Nord Atlantico, regioni artiche ed antartiche, Giappone e costa sud del Cile;
- *Contracaecum osculatus complex*: diffuso nelle acque costiere del Nord Atlantico, regioni artiche ed antartiche, Giappone e costa sud del Cile (CDC, 2019a).
- *Hysterothylacium spp*: diffuso nelle acque di tutto il mondo (Fuentes *et al.*, 2022).

Le larve di *Anisakis* spp. sono lunghe 1-3cm e presentano un diametro di 0,5 cm, di colore bianco o bianco-giallastro e generalmente si presentano arrotolate a spirale; se stimolate appaiono attive (Fazio, 2011).

Le larve di *Pseudoterranova* spp. sono lunghe 2,5-4 cm e presentano un diametro di 0,2 cm, di colore bruno o bruno-arancio e generalmente si presentano arrotolate a spirale (meno stretta rispetto ad *Anisakis* spp.); se stimolate appaiono attive (Fazio, 2011).

Le larve di *Contracaecum* spp. sono lunghe circa 1 cm, di colore bianco-verdastro, con una caratteristica forma ad uncino ed un corpo affusolato alle due estremità (Fazio, 2011).

Le larve di *Hysterothylacium* spp. sono lunghe, biancastre, di aspetto slanciato e generalmente non avvolte a spirale (Fazio, 2011). Tendono a localizzarsi maggiormente nella muscolatura del pesce rendendo più difficile la loro identificazione in sede ispettiva.

La migrazione nel tessuto muscolare *post mortem* è caratteristica della famiglia *Anisakidae* ma la massiva presenza delle larve di *Hysterothylacium* nella muscolatura è probabilmente indice che per questi parassiti la migrazione avvenga *intra vitam* (Fuentes *et al.*, 2022).

Le larve di *Anisakis* spp. allo stadio L3-L4 (Figura 8) parassitano muscolatura e visceri di più di 200 specie di pesci e 25 di cefalopodi mentre, allo stadio adulto, sono endoparassiti dell'apparato gastrointestinale di mammiferi marini (Morozińska-Gogol, 2019).



Figura 8: Larve L3 di *Anisakis* spp. in Acciuga (*Engraulis encrasicolus*) (Malandra, 2017)

La prevalenza delle larve della famiglia *Anisakidae* rilevata nel 2004 nei pesci del Mediterraneo è riportata nella Tabella 1.

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 scombus</i>	sgombro	71
<i>Conger conger</i>	gronco	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 erytrinus</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

Tabella 1: Prevalenza larve della famiglia *Anisakidae* nei pesci del Mediterraneo (Istituto Superiore di Sanità, 2004)

Salmo salar allevato rappresenta l'unica specie che, grazie ai dati in possesso alla comunità scientifica, è ritenuta esente dall'infestazione da *Anisakis* spp. (EFSA, 2010).

Dal 2000 al 2016 sono stati registrati 236 casi di anisakidosi umana nell'Unione Europea, cui il 28,4% in Italia. In 62 casi su 236 (26,3%) casi, l'infestazione è avvenuta dopo il consumo di Acciughe (*Engraulis encrasicolus*) (Morozińska-Gogol, 2019).

L'uomo e altri mammiferi terrestri piscivori rappresentano ospiti finali paratenici; nello specifico l'uomo viene infestato attraverso il consumo di piatti a base di pesce o cefalopodi crudi o poco cotti (Figura 9) (Morozińska-Gogol, 2019).

La malattia nell'uomo si manifesta generalmente dopo 12 ore dall'ingestione (forma gastrica) e in 5-7 giorni nella (forma intestinale). La sintomatologia, che comprende irritazione locale, nausea, vomito, diarrea, grave dolore epigastrico e lieve febbre può essere confusa con ulcere gastriche o duodenali, peritonite o appendicite. Le forme di infestazione

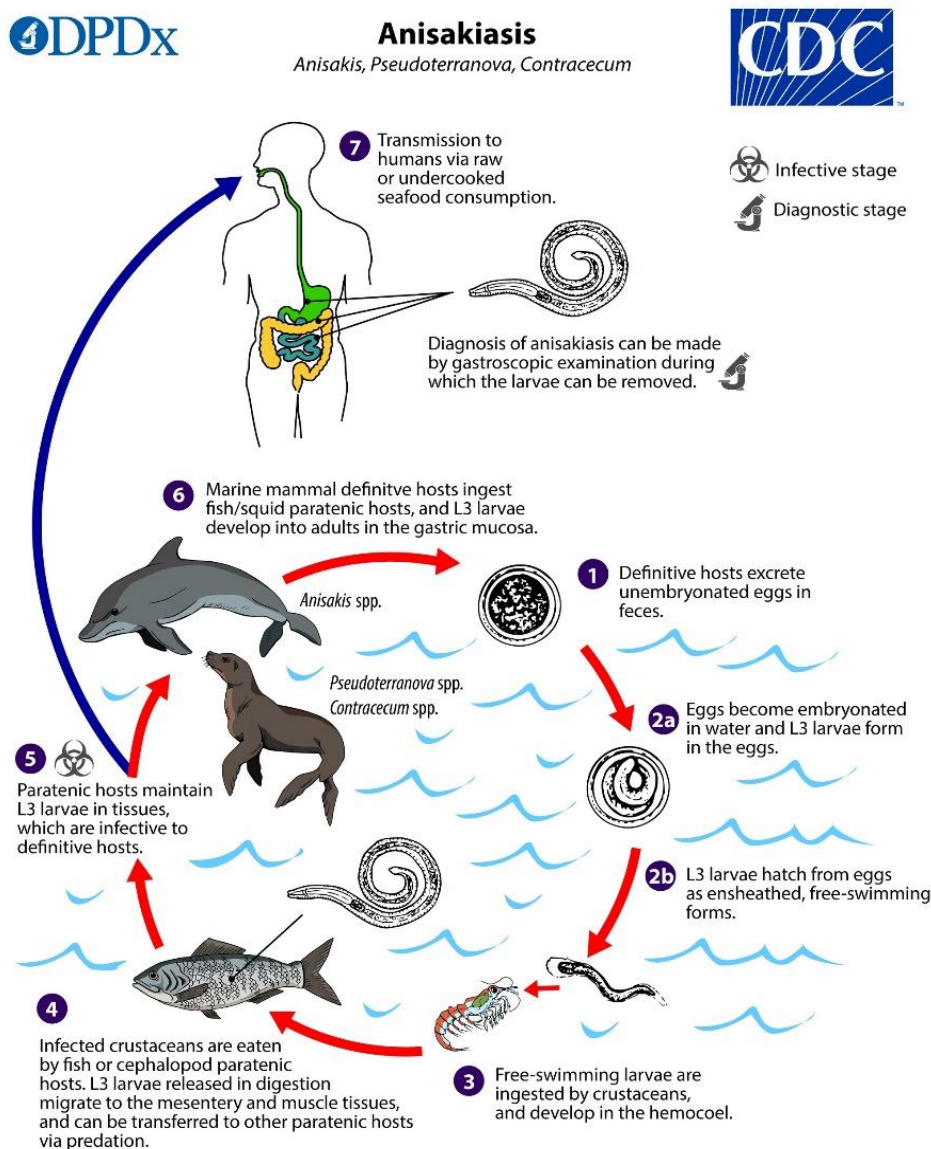


Figura 9: Ciclo vitale di *Anisakis* spp. (CDC, 2019a)

gastrica o intestinale possono essere accompagnate da reazioni allergiche che si manifestano sotto forma di orticaria, angioedema, asma, congiuntivite e shock anafilattico (Morozińska-Gogol, 2019).

Anisakis spp. produce infatti 14 proteine diverse che possono portare a manifestazioni allergiche. Le proteine allergeniche vengono distinte in tre gruppi:

- Proteine escretorie e secrete: espresse dalle larve durante l'infestazione denominate *Anis s 1* e *Anis s 4-9*;
- Proteine somatiche: costituiscono parte integrante del corpo della larva denominate *Anis s 2* e *Anis s 3*;
- Proteine della cuticola: presenti sulla superficie corporea della larva per proteggerla dalla digestione (Morozińska-Gogol, 2019).

Diverse proteine allergeniche di *Anisakis* spp. sono termostabili, potendo sopravvivere a $94\pm 1^\circ\text{C}$ per 3 minuti (Della-Morte *et al.*, 2023), e sono resistenti alle pepsine digestive e a pH bassi. Per questi motivi, in persone predisposte e sensibilizzate da pregressi contatti (circa il 7% della popolazione nelle zone endemiche), le reazioni allergiche si manifestano anche dopo il consumo di prodotti della pesca sottoposti al trattamento termico prescritto dal Regolamento (CE) 853/2004 (Morozińska-Gogol, 2019).

Nell'uomo, la metodologia terapeutica più comune per le parassitosi da *Anisakis* spp. è rappresentata dalla rimozione in endoscopia, anche se forme lievi di parassitosi intestinale possono essere trattate con somministrazione di albendazolo (Morozińska-Gogol, 2019).

La pericolosità del genere *Anisakis* risiede nella sua grande diffusione in numerose specie ittiche e nella sua capacità di causare reazioni allergiche anche se le larve sono devitalizzate (Morozińska-Gogol, 2019).

Per questi motivi si rende necessaria l'ispezione visiva dei prodotti della pesca al momento dell'eviscerazione e la rimozione dei parassiti visibili, che non devono in alcun modo essere presenti nei pesci al momento della consegna al consumatore (Regolamento (CE) 2074/2005). Inoltre, è necessaria l'applicazione di trattamenti termici efficaci per la devitalizzazione del parassita, come il raggiungimento di almeno 60°C per 1 minuto al cuore del prodotto o, secondo un recente studio, 60°C per 8 minuti al cuore del prodotto (Sánchez-Alonso *et al.*, 2021).

Per i prodotti della pesca consumati crudi o poco cotti, il congelamento ad almeno -20°C per 24 ore o ad almeno -35°C per 15 ore, come da Regolamento (CE) 853/2004, sono considerati trattamenti efficaci.

2.2.2 *Opisthorchis felineus*

Opisthorchis felineus è un parassita zoonosico (Figura 10) appartenente alla classe dei Trematodi e presente in Europa ed Asia. In Italia, tra il 2003 ed il 2011, *O. felineus* si è reso responsabile di 211 casi di infestazione legati al consumo di filetti di Tinca (*Tinca tinca*) marinati (Pozio *et al.*, 2013).



Figura 10: Metacercaria di *Opisthorchis* spp. (Armignacco *et al.*, 2013)

Il ciclo vitale (Figura 11) del parassita coinvolge un invertebrato (lumache di acqua dolce del genere *Bithynia*) come primo ospite intermedio, un secondo ospite intermedio rappresentato da pesci di acqua dolce della famiglia *Cyprinidae* (carpe e tinche) e mammiferi piscivori come ospiti finali (Pozio *et al.*, 2013).

Le manifestazioni cliniche sono caratterizzate da una fase acuta ed una fase cronica (Pozio *et al.*, 2013).

Nella fase acuta i sintomi più comuni sono febbre, dolore addominale, astenia, artralgia, diarrea, nausea, eosinofilia e aumento degli enzimi epatici (Pozio *et al.*, 2013).

Nella fase cronica sono stati osservati colangiti ricorrenti, ascessi epatici, pancreatite acuta e peritonite biliare (Pozio *et al.*, 2013).

Circa un terzo delle infestazioni risultano asintomatiche (Armignacco *et al.*, 2013).

Da un recente studio nella regione della Siberia dell'Ovest, in cui *O. felineus* è endemico, è emerso che il colangiocarcinoma umano viene diagnosticato nel 71% dei casi di tumore epatico, mentre in paesi in cui il parassita non è presente, come negli Stati Uniti, la percentuale scende al 19%, facendo ipotizzare un possibile potenziale carcinogenico di *O. felineus* (Pakharukova e Mordvinov, 2015).

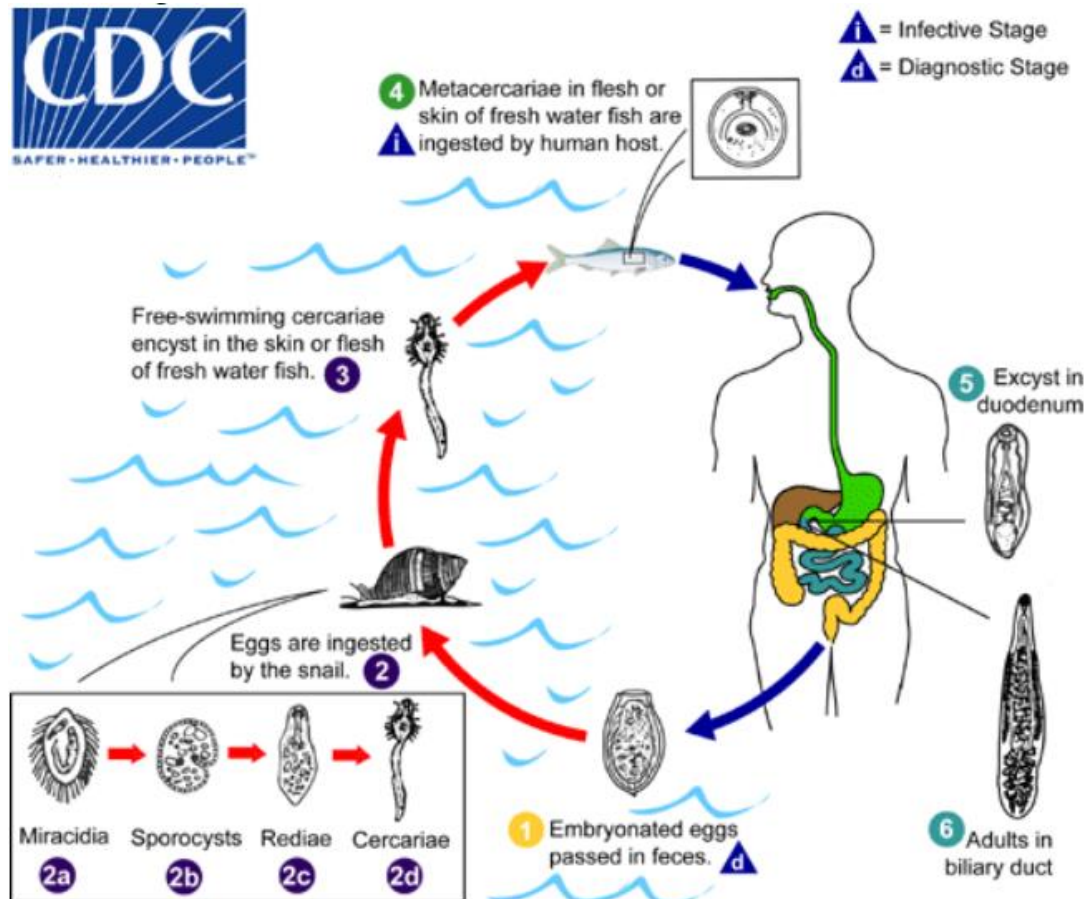


Figura 11: Ciclo vitale di *Opisthorchis* spp. (CDC, 2018)

La diagnosi clinica nell'uomo si effettua attraverso la ricerca di uova del parassita nelle feci e la terapia si basa sulla somministrazione di praziquantel o albendazolo (Pozio *et al.*, 2013). Ai fini della prevenzione, è necessario evitare il consumo di pesci della famiglia *Cyprinidae* crudi o poco cotti (ad esempio, dopo marinatura) e sul mantenimento di buone norme igieniche utili a contrastare la diffusione del parassita nelle zone endemiche, come il corretto trattamento dei residui di lavorazione del pesce e delle acque fognarie (EFSA, 2010).

2.2.3 *Opisthorchis viverrini*

Opisthorchis viverrini è un parassita zoonosico (Figura 12) appartenente alla classe dei Trematodi, prevalentemente diffuso in Thailandia, Laos, Cambogia e Vietnam (Sithithaworn *et al.*, 2007).



Figura 12: Forma adulta di *Opisthorchis viverrini* (Ash e Orihel, 2007)

Quando le uova raggiungono un corso d'acqua vengono ingerite, come per *O. felineus*, da un invertebrato (lumache di acqua dolce del genere *Bithynia*) che funge da primo ospite intermedio (Brockelman *et al.*, 1986). Circa due mesi dopo l'infestazione iniziale le sporocisti producono migliaia di nuove redie al giorno: da queste si sviluppano le cercarie che, libere nell'acqua, penetrano nel tessuto del pesce ospite (secondo ospite intermedio) e si incistano passando allo stadio di metacercaria in 21 giorni (Sithithaworn e Haswell-Elkins, 2003). Il secondo ospite intermedio è rappresentato da oltre 80 specie ittiche appartenenti alla famiglia *Ciprynidae* e circa 13 specie di altre famiglie (WHO, 2005).

La fonte di infestazione per l'uomo è rappresentata dal consumo di pesce crudo o poco cotto appartenente alle specie sensibili (e proveniente dai luoghi in cui il parassita risulta endemico) e da scarsa igiene di utensili, superfici e mani degli operatori che entrano in contatto con il pesce infestato (Sithithaworn e Haswell-Elkins, 2003).

La localizzazione del parassita, i danni all'ospite finale, i sintomi e la relativa terapia sono sovrapponibili a quelli causati da *O. felineus* (Sithithaworn e Haswell-Elkins, 2003; WHO, 2005).

2.2.4 *Clonorchis sinensis*

Clonorchis sinensis è un parassita zoonosico (Figura 13) appartenente alla classe dei Trematodi ampiamente diffuso in Corea, Cina, Taiwan, Vietnam, Est della Russia e, nel passato, in Giappone (Hong e Fang, 2012; Sithithaworn *et al.*, 2007). Si ritiene che, una volta

entrato nell'organismo umano, un singolo parassita possa sopravvivere anche 26 anni (Attwood e Chou, 1978).

Il ciclo biologico per *C. sinensis* è sovrapponibile ad *Opisthorchis* spp. ad eccezione del numero di famiglie di lumache acquatiche in grado di ospitare il primo stadio del parassita: per questo parassita sono infatti cinque (*Assiminidae*, *Bithyniidae*, *Hydrobiidae*, *Melaniidae*, *Thiaridae*) invece delle sole *Bithyniidae* (Lun et al., 2005).

Il secondo ospite intermedio è rappresentato da 132 specie di pesci, di cui 71 appartengono alla famiglia *Cyprinidae*. *C. sinensis* infesta una grande varietà di animali selvatici e domestici piscivori, tra cui volpi, cani domestici, gatti, suini e roditori (Lun et al., 2005).

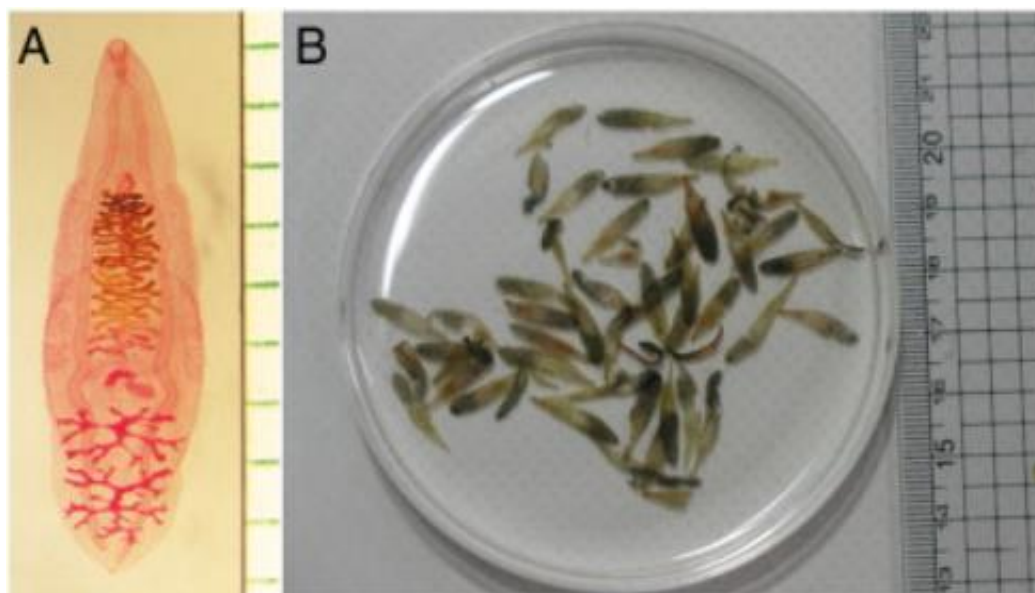


Figura 13: Adulto di *Clonorchis sinensis* con colorazione acetocarmine (A) e adulti di *C. sinensis* recuperati da infestazione umana in seguito a trattamento con praziquantel in Corea (Hong e Fang, 2012)

L'organismo umano e *C. sinensis* sono bene adattati l'uno all'altro; questo implica che, nella maggior parte dei casi, l'infestazione risulti asintomatica (Miliotis et al., 2003). Solo una parte della popolazione infestata da un numero elevato di parassiti o con infestazioni croniche presenta manifestazioni cliniche come dolore epigastrico, febbre, ittero e diarrea (Hong e Fang, 2012). Le complicazioni più gravi comprendono calcoli biliari, colangite piogenica, ascessi epatici e colangiocarcinoma (Choi et al., 2008; Miliotis et al., 2003; Rim, 2005).

Come per *Opisthorchis* spp., la terapia si avvale dell'uso di praziquantel a cui va associata, per ridurre il rischio di contrarre nuovamente il parassita, l'educazione della popolazione a non consumare carni crude o poco cotte delle specie a rischio infestazione (Choi et al., 2010).

2.2.5 *Eustrongylides* spp.

I parassiti del genere *Eustrongylides* comprendono sette specie di Nematodi diffusi in tutto il mondo ad eccezione delle zone artiche e sub-artiche. Sono parassiti di uccelli piscivori della famiglia *Ciconiformes* e, accidentalmente, di anfibi, rettili e mammiferi (uomo compreso) (Honcharov *et al.*, 2022).

Il complicato ciclo biologico (Figura 14) di questi nematodi ha inizio con Oligocheti acquatici in cui le larve sono presenti allo stadio L1-L2. Dopo che questi ospiti hanno ingerito le uova rilasciate nell'acqua dagli ospiti finali, le larve fuoriescono dall'uovo grazie all'azione dei succhi gastrici, penetrano la parete dell'apparato gastrointestinale e raggiungono la cavità celomatica. A questo punto entrano nel circolo sanguigno e raggiungono la testa dell'ospite primario dove, dopo aver mutato due volte, diventano infestanti per l'ospite secondario (l'intero processo richiede 5-5,5 mesi) (Honcharov *et al.*, 2022).

Gli ospiti intermedi secondari sono rappresentati da pesci planctotrofici o che si nutrono sul fondale di corpi d'acqua dolce e, meno raramente, di acqua salmastra o estuari; tra questi, anche Acipenseridi, *E. lucius*, *P. fluviatilis* e *Sander lucioperca* possono essere coinvolti nel ciclo biologico di *Eustrongylides* spp. (Honcharov *et al.*, 2022).

L'infestazione degli ospiti secondari (Figura 15) è dipendente dalle temperature esterne (essendo l'*optimum* di 20-30°C, la parassitosi ha carattere stagionale), dall'età dell'ospite (le larve sono maggiormente presenti nei soggetti più anziani) e dalla natura della dieta dell'ospite (sono più interessati i pesci predatori) (Honcharov *et al.*, 2022).

Negli ospiti secondari le larve, dopo aver perforato l'apparato gastrointestinale, migrano per andare a localizzarsi nell'epatopancreas, nelle gonadi o nel tessuto muscolare. Una volta raggiunta la localizzazione definitiva la larva muta altre due volte per giungere allo stadio L3-L4 e può rimanere nell'ospite secondario fino ad un anno (Honcharov *et al.*, 2022).

Macroscopicamente le larve L3-L4 causano melanizzazione, infiammazione, edema e compattamento dei tessuti limitrofi; in *P. fluviatilis* è stata osservata la formazione di una capsula tissutale in cui la larva si incista (Honcharov *et al.*, 2022). Le larve sono facilmente visibili grazie alle loro dimensioni (fino a 59mm) e al loro colore rosso-rosa che contrasta con il colore della muscolatura chiara del pesce (Franceschini *et al.*, 2022).

Una volta che un uccello piscivoro ha ingerito un pesce infestato da *Eustrongylides* spp., le larve migrano nella parete dello stomaco in 3-5 ore, dove causano emorragie, ulcere e reazioni infiammatorie granulomatose di vario tipo. Nei casi più gravi la migrazione delle

larve può causare perforazioni gastrointestinali che portano a peritoniti anche mortali (Honcharov *et al.*, 2022).

Le larve infestanti l'ospite finale giungono a maturità in 10-15 giorni e cominciano a produrre uova in 20-25 giorni. Le uova, una volta disperse nell'ambiente, rimangono vitali per 2-2,5 anni (Honcharov *et al.*, 2022).

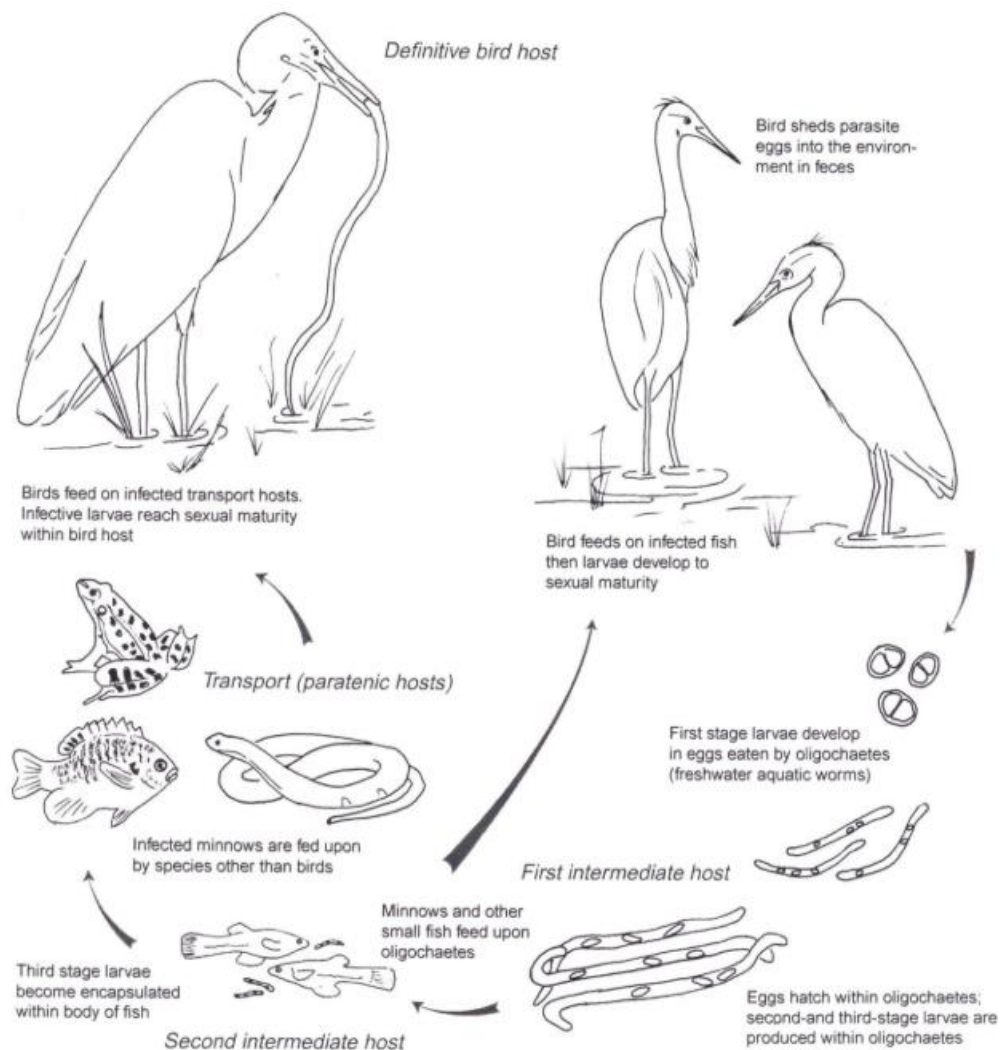


Figura 14: Ciclo biologico di *Eustrongylides* spp. (Cole, 1999; Honcharov *et al.*, 2022)

Le infestazioni accidentali nell'uomo sono caratterizzate da gastriti e perforazioni del tratto gastrointestinale. I sintomi cominciano circa 24 ore dopo l'ingestione del parassita e sono caratterizzati da spasmi dolorosi progressivi nell'area dello stomaco (Honcharov *et al.*, 2022). È possibile anche la localizzazione del parassita in granulomi sottocutanei localizzati in parti del corpo differenti (torace e arti) che causano una significativa risposta infiammatoria (Eberhard e Ruiz-Tiben, 2014; Honcharov *et al.*, 2022).

L'unica terapia disponibile è la rimozione chirurgica del parassita (Cole, 1999).

In Italia è stata confermata la presenza del parassita per la prima volta nel 2015 in Umbria nel Lago di Trasimeno ed è stato successivamente individuato in Piemonte nel Lago di San Michele (2020), nel Lago di Garda (2021), in Lombardia nel Lago di Annone (2022), in Toscana nel Lago di Massaciuccoli (2021) e in alcuni laghi alpini (Ceresio e Montorfano) (Castiglione *et al.*, 2023; Franceschini *et al.*, 2022; Guardone *et al.*, 2021; Menconi, Riina, *et al.*, 2020; Rusconi *et al.*, 2022).

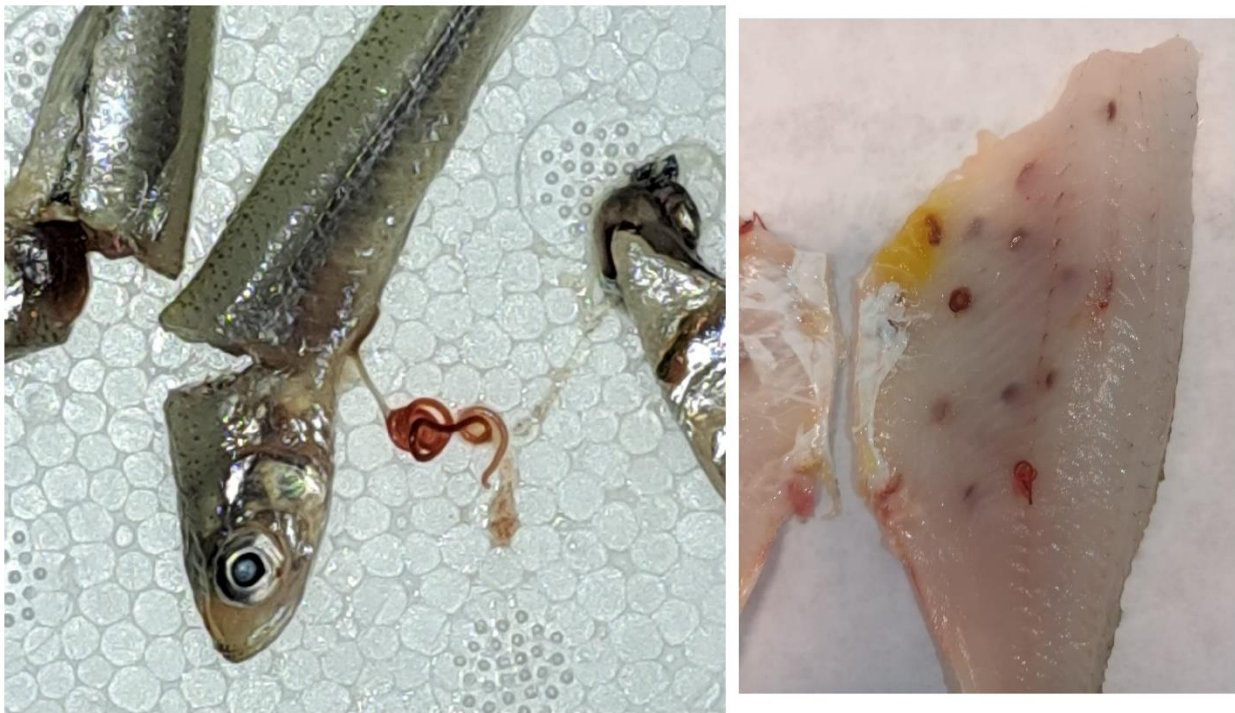


Figura 15: Larve di *Eustrongylides* spp. in Latterino o Acquadella (*Atherina boyeri*) (a sinistra) e in filetto di Pesce persico (*Perca fluviatilis*) (a destra) (Malandra, 2023)

3 Il genere *Dibothriocephalus*

Il genere *Dibothriocephalus* comprende parassiti zoonosici appartenenti alla classe dei Cestodi ed al *phylum* dei Platelminti, anche detti “vermi piatti”, responsabili della zoonosi conosciuta come difillobotriasi o botriocefalosi intestinale (Ministero della Salute, 2007). Sono i parassiti intestinali delle dimensioni più grandi che possano infestare l’uomo (Waeschenbach *et al.*, 2017). Infatti, nell’ospite definitivo, come l’uomo, il parassita adulto si sviluppa in lunghezza fino ad arrivare anche a 15 metri (Durrani *et al.*, 2022), con un tasso di crescita che può arrivare a 22 cm/giorno (Kuhlow, 1955; Scholz *et al.*, 2009).

Grazie agli studi di paleoparassitologia si è in grado di ricondurre la prima infestazione conosciuta in Europa di parassiti del genere *Dibothriocephalus* al 3905-3917 a.C., dato che le uova del parassita sono state ritrovate nei sedimenti di un accampamento del Neolitico nei pressi di zone lacustri in Svizzera e Germania (Le Bailly e Bouchet, 2013).

In Europa, uova di *Dibothriocephalus* spp. sono state rinvenute in tutti i periodi storici passati: preistoria (12000-100 a.C.), epoca romana (100 a.C.- 476 d.C.), periodo medioevale



Figura 16: Stampa su legno raffigurante un uomo espellere un cestode. La didascalia (non inclusa) recita “L’uomo ha mangiato del salmone masu. Dopo un po’ uno strano oggetto è emerso dall’ano ed è stato tirato fuori: si è rivelato lungo 2-3 metri”. Tratto da “Shinsen Yamaino Soushi” di Daizenosuke Koan (1850) – Biblioteca Medica dell’Università di Tohoku (Naoki *et al.*, 2009)

(476-1492 d.C.) ed era moderna (1492-1900 d.C.). Nel continente americano il caso più antico risale a prima della colonizzazione occidentale e precisamente all'8000 a.C. (Le Bailly e Bouchet, 2013).

Il corpo del parassita è costituito da piccoli segmenti chiamati proglottidi che, a seconda della dimensione del parassita, possono arrivare a migliaia di unità. La parte anteriore del parassita è denominata scolice e consente al parassita di ancorarsi alla parete intestinale dell'ospite attraverso due scanalature chiamate botri o botrioidi (Figura 17) (Durrani *et al.*, 2022). Le proglottidi generano dalla zona proliferativa, o collo, del parassita, presentano ognuna organi sessuali maschili e femminili e costituiscono, insieme allo scolice ed al collo, lo strobilo o corpo del parassita (Durrani *et al.*, 2022). Le uova sono di forma variabile, da rotonda ad ovoidale, a seconda della specie di *Dibothriocephalus* da cui derivano e dall'ospite in cui il parassita si sta sviluppando (Durrani *et al.*, 2022).

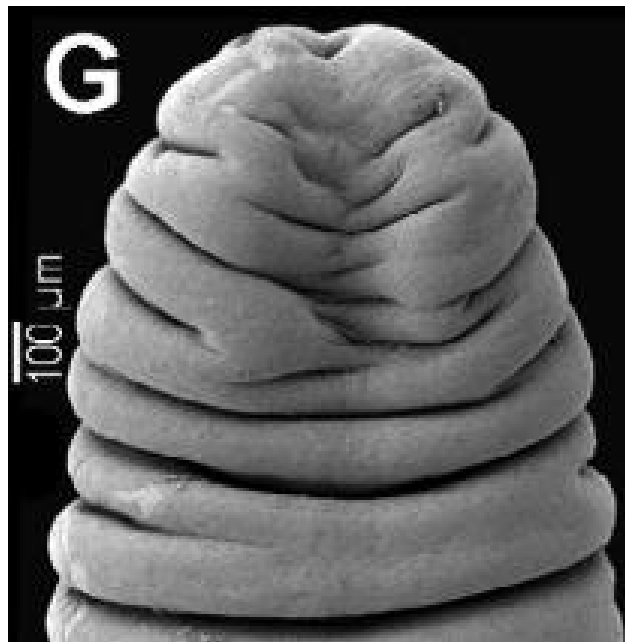


Figura 17: Particolare di scolice con botrioidi di *D. latus* (Waeschenbach *et al.*, 2017)

L'identificazione della specie non può essere effettuata solo sulla base di analisi morfologiche, ma risultano necessari strumenti di indagine più specifici, come la reazione a catena della polimerasi (PCR) utilizzando come marker di scelta il gene *cox1*, che codifica per la subunità 1 del citocromo-C ossidasi (de Marval *et al.*, 2013a; Waeschenbach *et al.*, 2017). La difficoltà nell'identificare l'esatta specie responsabile dell'infestazione fa spesso ipotizzare che *D. latus* ne sia il principale responsabile, nonostante 13 specie appartenenti a questo genere siano capaci di parassitare l'essere umano (Durrani *et al.*, 2022).

Il genere, prima chiamato *Diphyllbothrium*, è stato recentemente riclassificato da Waeschenbach *et al.* (2017) in *Dibothriocephalus* in modo da poter distinguere i *taxa* che infestano principalmente gli organismi terrestri, tra cui l'uomo, dagli altri Diphyllobotridii. Il nome *Diphyllbothrium* è, ad oggi, considerato sinonimo di *Dibothriocephalus*.

Sulla base dell'ultimo aggiornamento fornito dall'Unione Europea, risalente a circa vent'anni fa e riferito al solo *D. latus* (Dupouy-Camet e Peduzzi, 2004), la malattia causata dal parassita risulta in diminuzione nei paesi Baltici e Scandinavi ma in aumento nelle regioni alpine di Francia ed Italia.

3.1 Ciclo vitale

Il ciclo vitale di *Dibothriocephalus* spp. (Figura 18) ha inizio dalle uova non embrionate rilasciate con le feci, che presentano un caratteristico opercolo all'estremità più stretta. Il primo stadio della larva, o oncosfera, è ricoperto esternamente da un involucro ciliato che, al momento della schiusa in acqua, rilascia un coracidio, ovvero una larva di cestode dotata di motilità (Scholz *et al.*, 2009).

Il coracidio, nuotando, attrae i potenziali ospiti primari (von Bonsdorff, 1977; Scholz *et al.*, 2009). Circa 40 specie dei generi *Acanthodiptomus*, *Arctodiptomus*, *Diaptomus*, *Eudiaptomus*, *Eurytemora*, *Boeckella*, *Cyclops*, e probabilmente *Mesocyclops*, fungono da ospiti primari (Magath, 1937; Eguchi, 1973; Torres *et al.*, 2007; Scholz *et al.* 2009).

Il coracidio penetra la parete intestinale del copepode ed evolve in larva procercoide, che non presenta un'appendice anteriore differenziata (scolice) ma possiede un'appendice posteriore (cercomero) contenente sei uncini embrionali (Chervy, 2002; Scholz *et al.*, 2009).

Gli ospiti secondari comprendono pesci di acqua dolce, anadromi e marini. La larva procercoide, una volta che il copepode in cui è incistata viene ingerita dall'ospite secondario, si libera ed evolve in larva plerocercoide (Chervy, 2002; Scholz *et al.*, 2009).

Il sito in cui avviene questa metamorfosi è rappresentato da qualsiasi organo o dalla cavità celomatica dell'ospite (in cui è libera); a questo punto la larva plerocercoide può rimanere libera nei tessuti dell'ospite o incapsularsi in cisti di tessuto connettivo (Dick *et al.*, 2001; Scholz *et al.*, 2009).

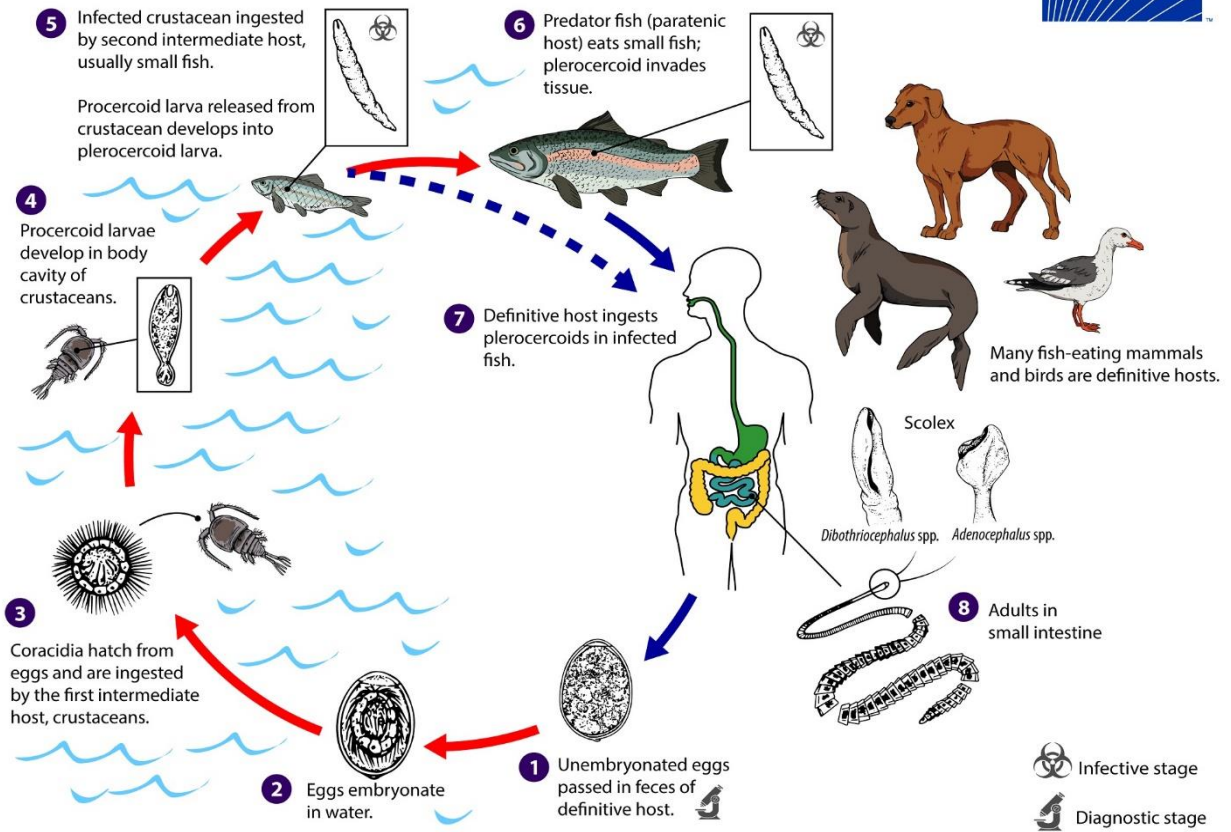


Figura 18: Ciclo vitale di *Dibothriocephalus* spp. (CDC, 2019b)

Da un punto di vista epidemiologico, la presenza della larva nel tessuto muscolare, nel fegato o nelle gonadi è di particolare importanza ma va ricordato che, dopo la morte dell'ospite, le larve plerocercoidi possono migrare nella muscolatura (Scholz *et al.*, 2009). Per una descrizione più dettagliata degli ospiti secondari si rimanda al capitolo 3.5 "I prodotti a rischio".

Una volta che le larve plerocercoidi sono state ingerite dall'ospite finale evolvono rapidamente in adulti nell'intestino dell'uomo, mammiferi carnivori o uccelli piscivori, liberando le prime uova in 2-6 settimane (Eguchi, 1973; von Bonsdorff, 1977; Scholz *et al.*, 2009).

La fecondità del genere *Dibothriocephalus* è estremamente elevata e si stima che un solo esemplare possa produrre fino ad un milione di uova al giorno (von Bonsdorff, 1977; Scholz *et al.*, 2009); questo implica che l'ambiente possa essere contaminato facilmente se non vengono rispettate le norme igienico-sanitarie basilari e se il trattamento delle acque fognarie non è realizzato correttamente (Scholz *et al.*, 2009).

Il problema della contaminazione delle acque con le uova del cestode è accentuato dalla capacità di molte specie di *Dibothriocephalus* di giungere allo stadio adulto pur non avvalendosi di un ospite umano. A causa di questa caratteristica l'eliminazione completa del parassita dalla popolazione umana non garantisce la scomparsa del parassita in natura nelle aree endemiche (Scholz *et al.*, 2009).

3.2 *Dibothriocephalus latus*

Dibothriocephalus latus è responsabile di 10-20 milioni di casi annui di infestazione umana a livello mondiale. Il suo ospite intermedio è rappresentato principalmente da pesci di acqua dolce, le larve plerocercoidi si ritrovano principalmente libere nella muscolatura (Scholz e Kuchta, 2016).

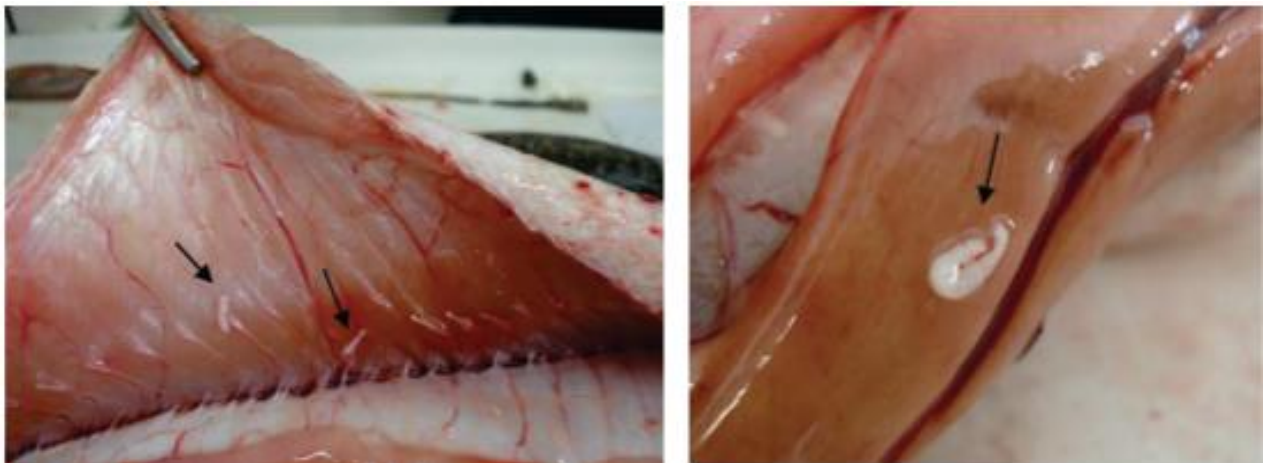


Figura 20: Larve plerocercoidi di *D. latus* localizzate a livello di sierosa peritoneale (a sinistra) e fegato (a destra) di Luccio (*Esox lucius*) (Bianchini *et al.*, 2012)



Figura 19: Larve plerocercoidi di *D. latus* (freccia) in diversi settori del muscolo laterale di Pesce persico (*Perca fluviatilis*) (Bianchini *et al.*, 2012)

D. latus ha come ospiti finali uomo, cani e gatti domestici, canidi e felidi selvatici, orso nero americano, orso bruno, procione, ghiottone, maiale e, sperimentalmente, criceto dorato; l'uomo rappresenta in ogni caso l'ospite finale principale (Scholz e Kuchta, 2016; Waeschenbach *et al.*, 2017). È il più comune cestode responsabile di ittioparassitosi di origine alimentare nel mondo, anche se diversi casi segnalati in Giappone, Corea e Nord America sono stati assegnati erroneamente a *D. latus* e sono stati poi ricondotti a *D. nihonkaiensis* (Scholz e Kuchta, 2016).

3.3 *Dibothriocephalus nihonkaiensis*

Ogni anno, *Dibothriocephalus nihonkaiensis* è responsabile di circa 2000 casi di parassitosi a livello mondiale. Ha come ospite intermedio principalmente i Salmonidi e le larve plerocercoidi si ritrovano libere o incistate nella muscolatura (Scholz e Kuchta, 2016). Inizialmente considerato identico a *D. latus* solo nel 1986 è stato riconosciuto come specie a parte (Scholz e Kuchta, 2016).

Come per *D. latus*, anche *D. nihonkaiensis* ha come ospiti finali uomo, orso bruno e orso grizzly, orso nero americano, orso nero asiatico, lupo, cane domestico, volpe, visone americano, maiale e, sperimentalmente, criceto dorato; l'uomo rappresenta in ogni caso l'ospite finale principale (Scholz e Kuchta, 2016; Waeschenbach *et al.*, 2017).

È il secondo cestode più comune nelle ittioparassitosi umane ed è stato per molto tempo limitato al Giappone anche se, recentemente, è stato identificato in Corea, Cina, Canada, Europa, Stati Uniti d'America e Oceania (Nuova Zelanda e Hawaii) (Scholz e Kuchta, 2016).

3.4 *Dibothriocephalus dendriticus*

Dibothriocephalus dendriticus è responsabile di circa 1000 casi mondiali annui di parassitosi umana, la maggior parte dei quali nella regione del Lago Baikal e nelle zone artiche e subartiche del Nord America. Anche se il parassita è largamente presente in Europa, non sono stati riportati casi ad eccezione di alcune autoinfestazioni a scopo di ricerca in Norvegia e Finlandia (Scholz e Kuchta, 2016).

Ha come ospite intermedio principale pesci della famiglia dei Salmonidi e pesci di acqua dolce; le larve plerocercoidi si ritrovano libere o incistate nei visceri e nella cavità celomatica, raramente nella muscolatura (Scholz e Kuchta, 2016).

Ha come ospiti finali 30 specie di uccelli piscivori appartenenti a nove famiglie diverse, canidi selvatici e volpi, orsi, e, probabilmente, lontre. L'infestazione nel criceto dorato, ratto e topo dorato è stata ottenuta solo sperimentalmente (Scholz e Kuchta, 2016).

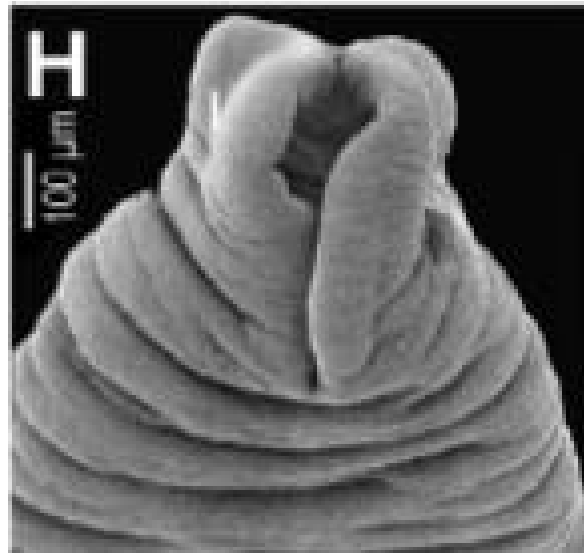


Figura 21: Particolare dello scolice con botrioidi di *D. dendriticus* (Waeschenbach *et al.*, 2017)

3.5 I prodotti a rischio

La difillobotriasi è associata ad abitudini alimentari che prevedono il consumo di pesce crudo o poco cotto, sia legate ad abitudini culturali tipiche di talune aree geografiche, sia mutate da altre culture in seguito alla diffusione di nuove tendenze alimentari (Scholz *et al.*, 2009). Queste includono il consumo di filetti di pesce marinati o sottoposti a salagione nei paesi baltici o scandinavi, il “carpaccio” (sottili fette di pesce crudo, chiamato anche “carpaccio di Persico” nel Nord Italia), il “*carpaccio d’omble chevalier*”, la “*tartare maison*” preparata con salmone crudo, il “*poisson du lac façon nordique*” nelle aree francofone d’Europa ed il “*gefilte fish*” (polpette di pesce tritato miscelato a pane, uova e spezie, cotto in brodo ma frequentemente consumato come “assaggio” quando ancora crudo) nelle popolazioni ebraiche (Scholz *et al.*, 2009). In America Latina e nelle popolazioni ispaniche in generale è popolare il “*ceviche*” o “*cebiche*” (pesce crudo marinato con sale e limone) (Scholz *et al.*, 2009).

Inoltre, nei paesi più industrializzati, la popolarità di ristoranti che servono pesce crudo o poco cotto (es. *sushi* e *sashimi*) è ritenuta responsabile dell'aumento dei casi umani di ittioparassitosi (Scholz *et al.*, 2009).

Più in generale, i prodotti a rischio sono rappresentati da carni di pesci di acqua dolce appartenenti a specie a rischio elevato ed impiegate nelle preparazioni di *sushi*, *sashimi*, carpaccio, pesce marinato o affumicato a freddo, senza essere state sottoposte alla cosiddetta “bonifica obbligatoria” prevista dal Regolamento (CE) 853/2004.

Nel caso dei parassiti del genere *Dibothriocephalus*, le specie ittiche a maggior rischio per la trasmissione del parassita sono le seguenti:

- Pesci appartenenti alla famiglia dei Salmonidi: Salmone giapponese (*Oncorhynchus masou*), Salmone keta (*Oncorhynchus keta*), Salmone rosa (*Oncorhynchus gorbuscha*), *Parahucho perryi*, *Hucho taimen* e *Salvelinus leucomaenis*. Le zone di pesca sono rappresentate dal Pacifico del Nord, Asia (Giappone, Cina, Russia dell'est e Corea) e Ovest del Nord America (Canada e Nord-Ovest degli Stati Uniti d'America) (Scholz e Kuchta, 2016);
- Pesci di acqua dolce: principalmente Luccio (*Esox lucius*), Pesce persico (*Perca fluviatilis*), Bottatrice (*Lota lota*) e, meno frequentemente, Acerina (*Gymnocephalus cernua*), *Sander vitreus* e *Perca flavescens*. Le zone di pesca sono rappresentate dal Nord America (Canada: Manitoba, Saskatchewan, Ontario, Alberta e Stati Uniti d'America: Lago Superiore) e dalla bioregione Euro-Siberiana (Scandinavia, Laghi Alpini, bacino del Danubio e Russia) (Scholz e Kuchta, 2016).

Di seguito vengono illustrate le zone FAO di pesca per alcune di queste specie ittiche, unitamente alle immagini fotografiche delle specie stesse. Si ricorda che le zone FAO sono aree geografiche definite dalla *Food and Agriculture Organization* (FAO), che vanno riportate sui documenti e sull'etichetta dei prodotti ittici. Si distinguono diverse zone, cui corrispondono numeri, e alcune sottozone limitatamente alle zone FAO 27 (Atlantico Nord-Orientale e Mar Baltico) e FAO 37 (Mar Mediterraneo e Mar Nero).

L'elenco delle zone FAO delle “aree marittime” è il seguente:

- FAO 18 Mare Artico;
- FAO 21 Atlantico nord-occidentale;
- FAO 27 Atlantico nord-orientale e Mar Baltico e le sue sottozone;
- FAO 31 Atlantico centro-occidentale;

- FAO 34 Atlantico centro-orientale;
- FAO 37 Mediterraneo e Mar Nero e le sue sottozone;
- FAO 41 Atlantico sud-occidentale;
- FAO 47 Atlantico sud-orientale;
- FAO 48-58-88 Oceano Antartico;
- FAO 51-57 Oceano Indiano;
- FAO 61-67-71-77-81-87 Oceano Pacifico (FAO, 2023).

Esiste anche una classificazione delle “acque interne” lacustri, fluviali, di estuario e di laguna, ed esattamente:

- FAO 1 Africa;
- FAO 2 America del Nord;
- FAO 3 America del Sud;
- FAO 4 Asia;
- FAO 5 Europa;
- FAO 6 Oceania;
- FAO 8 Antartide (FAO, 2023).

La zona di pesca FAO 07 ("Area ex URSS - Acque interne") si riferiva all'area che faceva parte dell'Unione delle Repubbliche Socialiste Sovietiche. A partire dal 1988, le nuove repubbliche indipendenti sono riunite in zone FAO diverse. Armenia, Azerbaigian, Georgia, Kazakistan, Kirghizistan, Tagikistan, Turkmenistan, Uzbekistan sono state assegnate alla zona di pesca FAO 4 "Asia - Acque interne" mentre Bielorussia, Estonia, Lettonia, Lituania, Repubblica di Moldova, Federazione Russa e Ucraina sono state assegnate alla zona di pesca FAO 5 "Europa - Acque interne" (FAO, 2023).

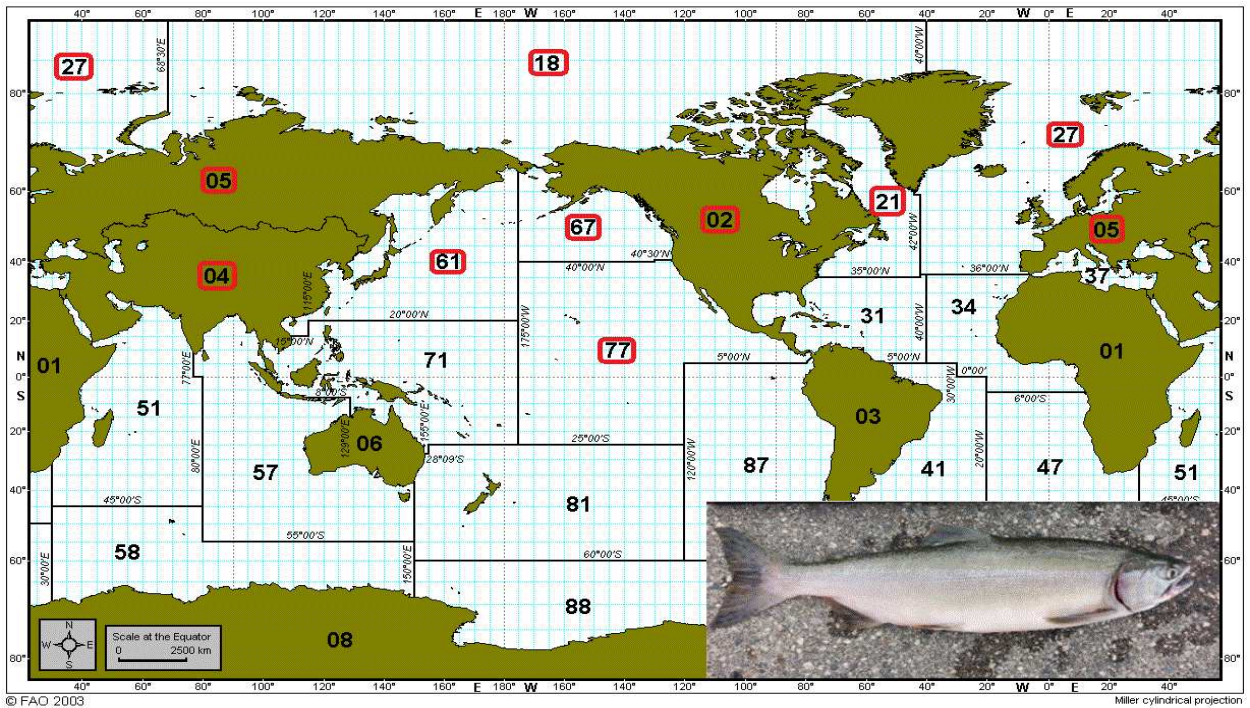


Figura 23: Zone di pesca FAO per il Salmone rosa (*Oncorhynchus gorbuscha*) (FAO, 2003; FishBase, 2023; Kaschner et al., 2023)

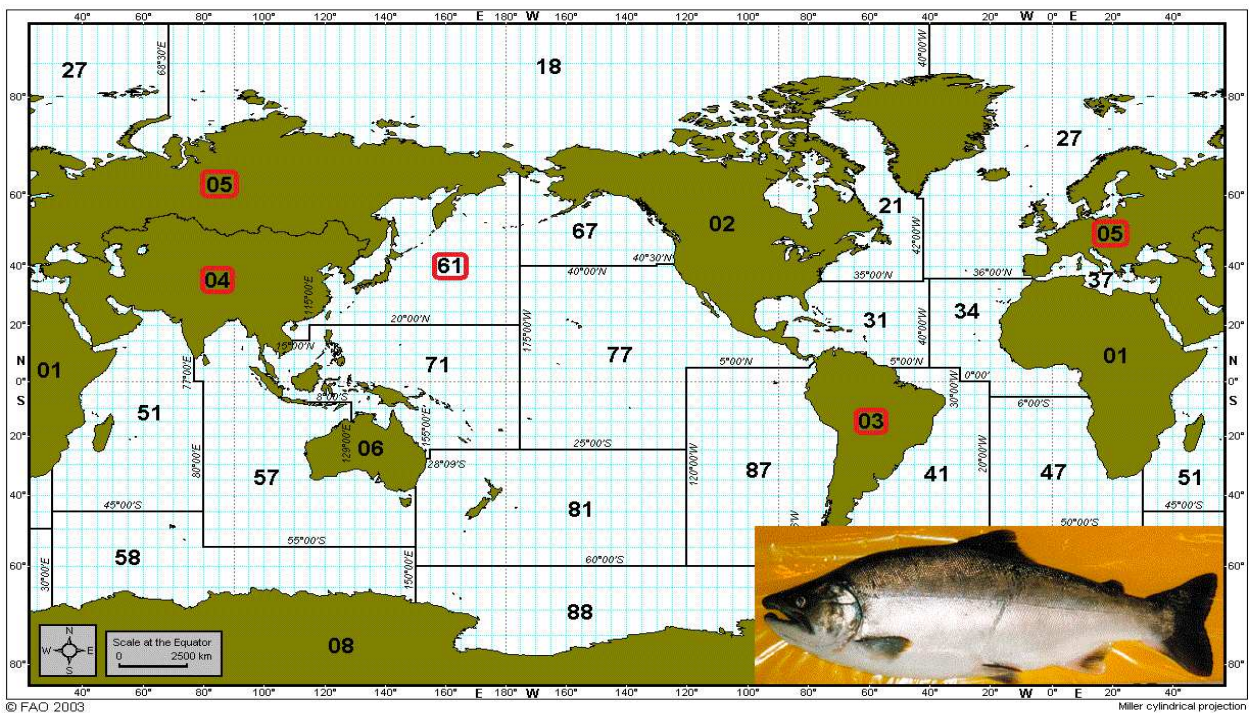


Figura 22: Zone di pesca FAO per il Salmone giapponese (*Oncorhynchus masou*) (FAO, 2003; FishBase, 2023; Kaschner et al., 2023)

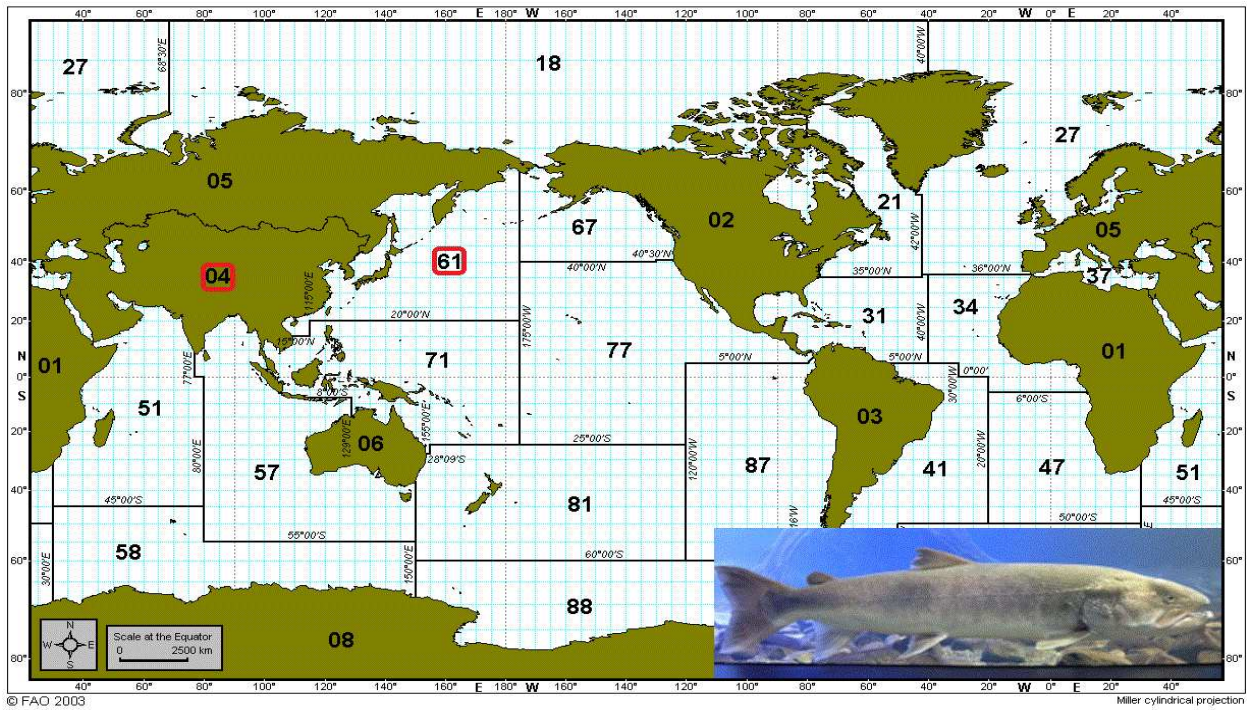


Figura 24: Zone di pesca FAO per *Parahucho perryi* (FAO, 2003; FishBase, 2023; Kaschner et al., 2023)

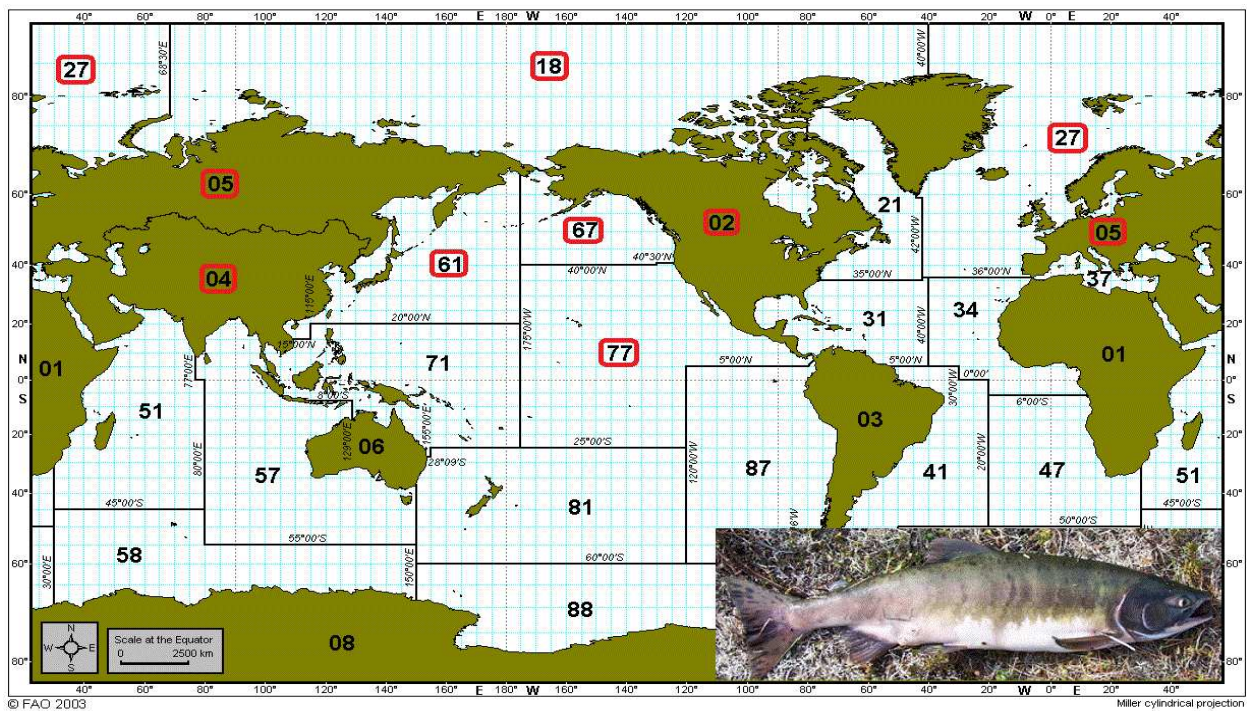


Figura 25: Zone di pesca FAO per il Salmone keta (*Oncorhynchus keta*) (FAO, 2003; FishBase, 2023; Kaschner et al., 2023)

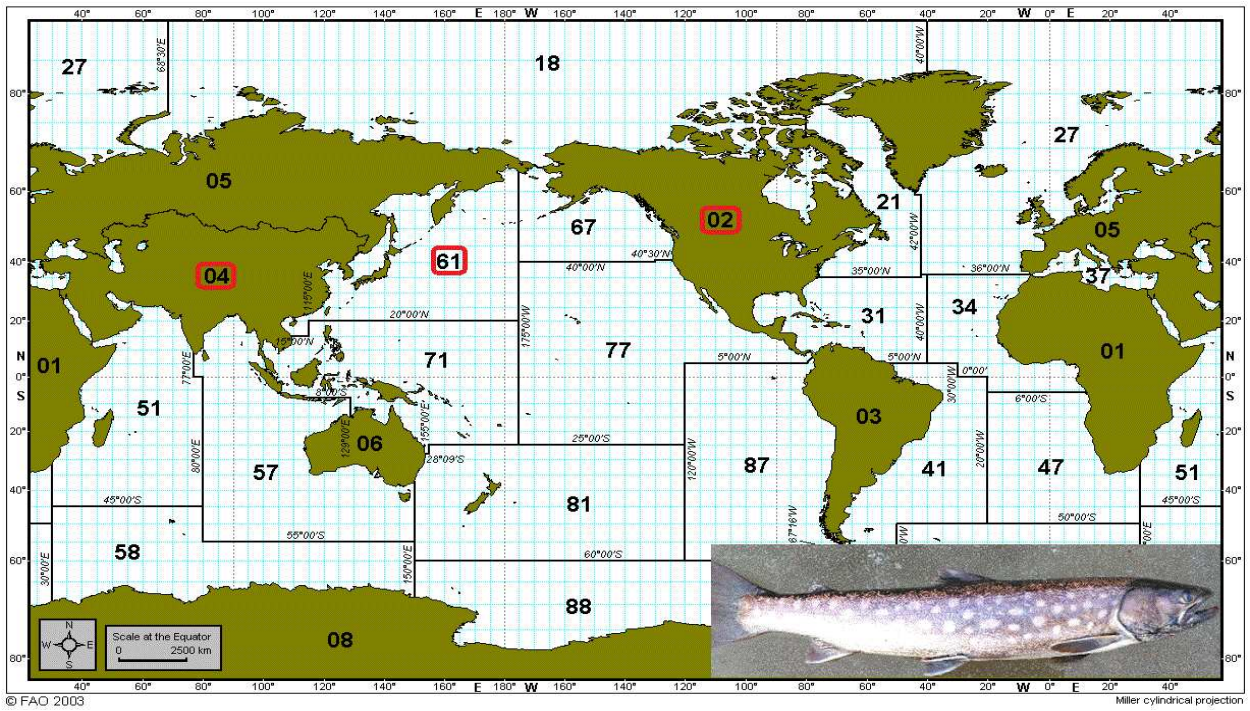


Figura 26: Zone di pesca FAO per *Salvelinus leucomaenis* (FAO, 2003; FishBase, 2023; Kaschner et al., 2023)

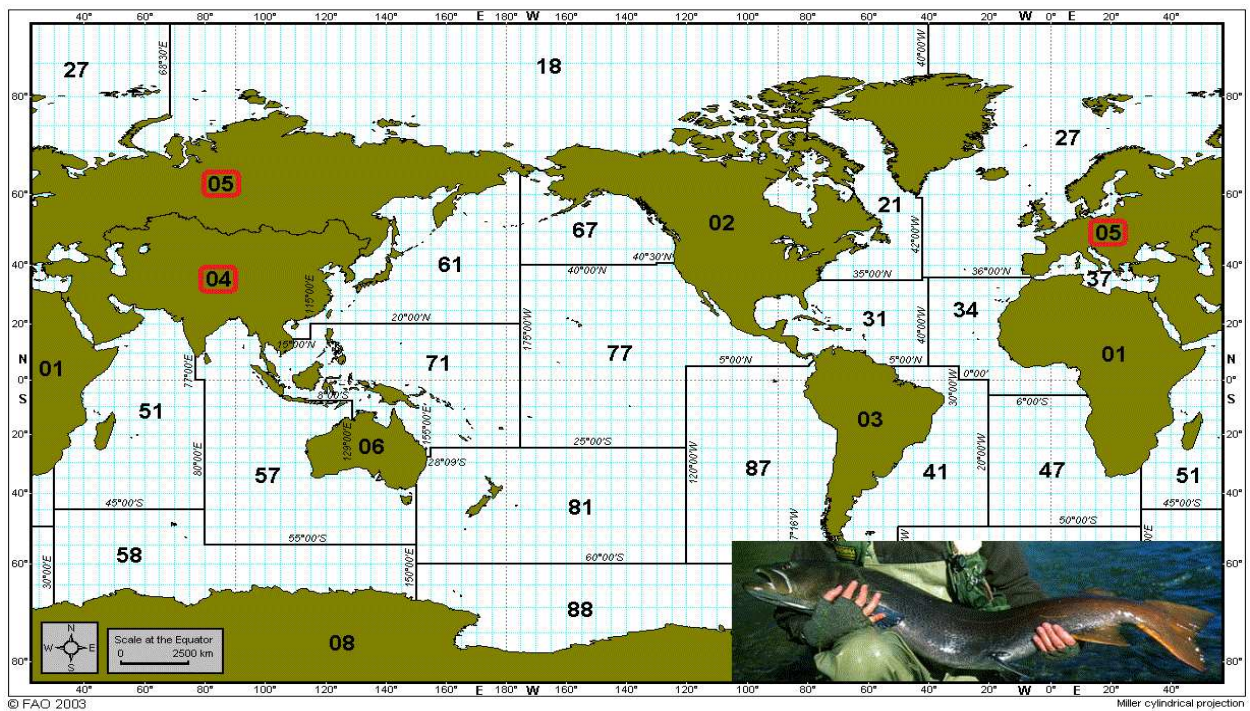


Figura 27: Zone di pesca FAO per *Hucho taimen* (FAO, 2003; FishBase, 2023; Kaschner et al., 2023)

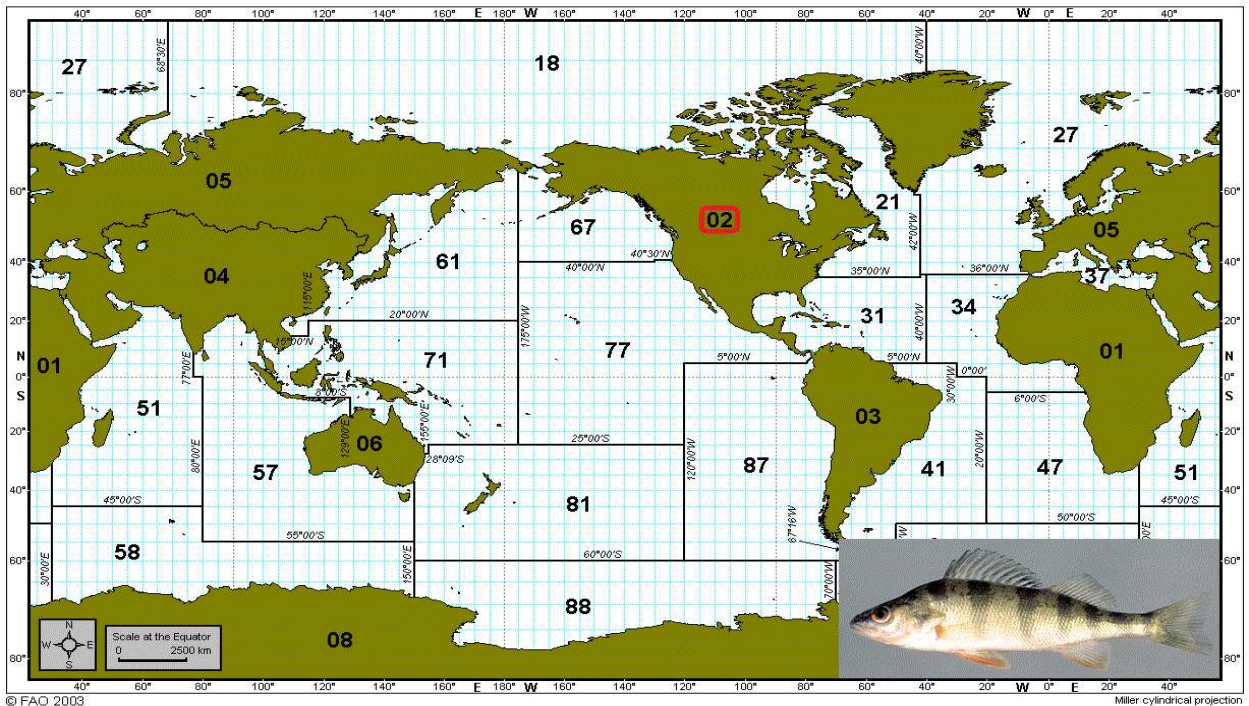


Figura 28: Zone di pesca FAO per *Perca flavescens* (FAO, 2003; FishBase, 2023; Kaschner et al., 2023)

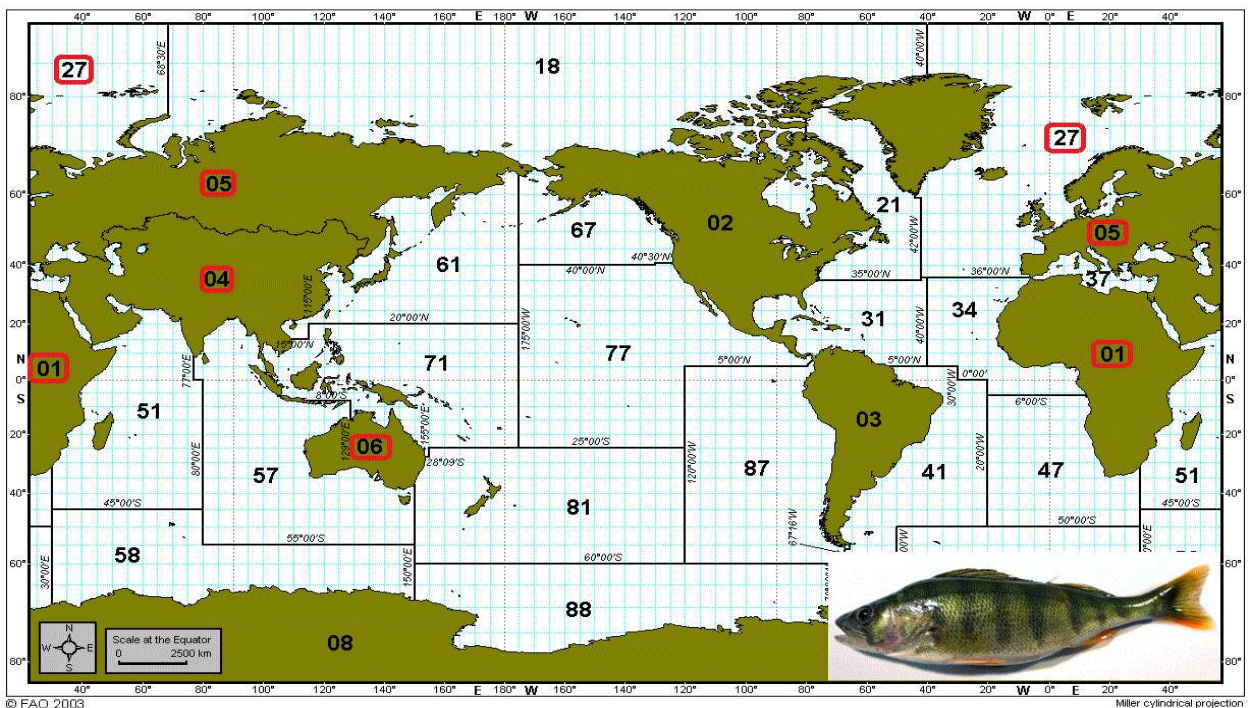


Figura 29: Zone di pesca FAO per il Pesce persico (*Perca fluviatilis*) (FAO, 2003; FishBase, 2023; Kaschner et al., 2023)

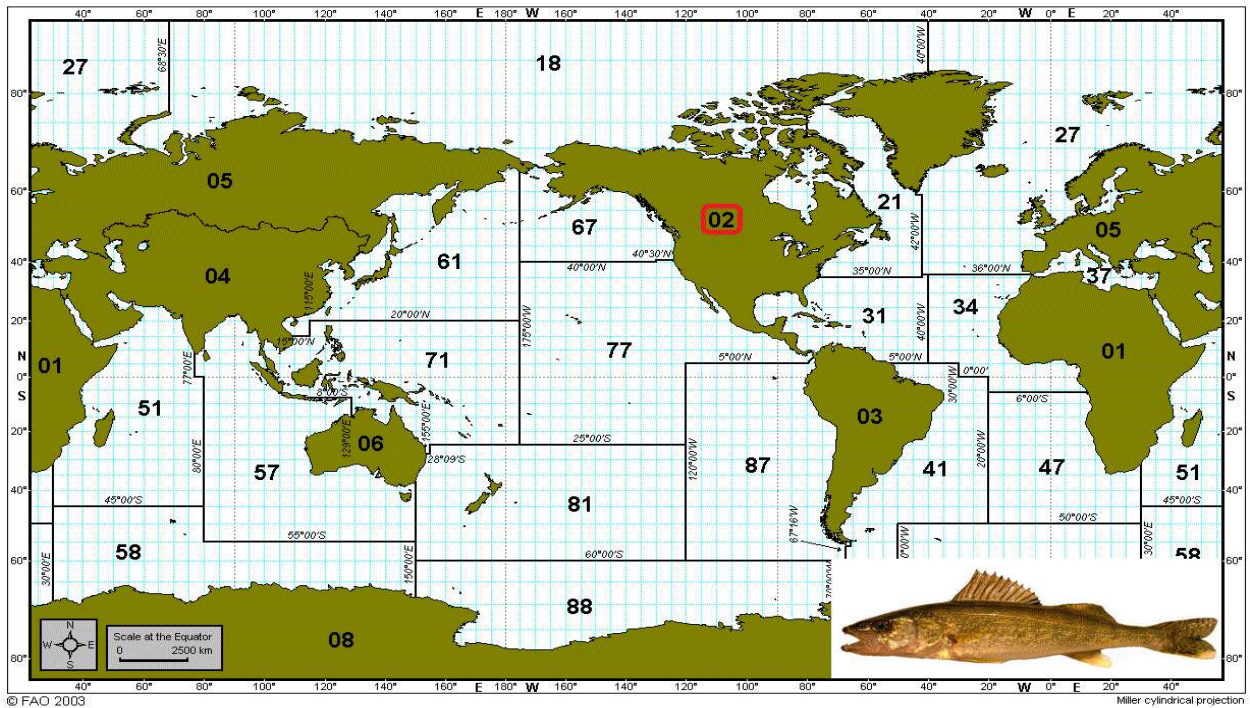


Figura 30: Zone di pesca FAO per *Sander vitreus* (FAO, 2003; FishBase, 2023; Kaschner *et al.*, 2023)

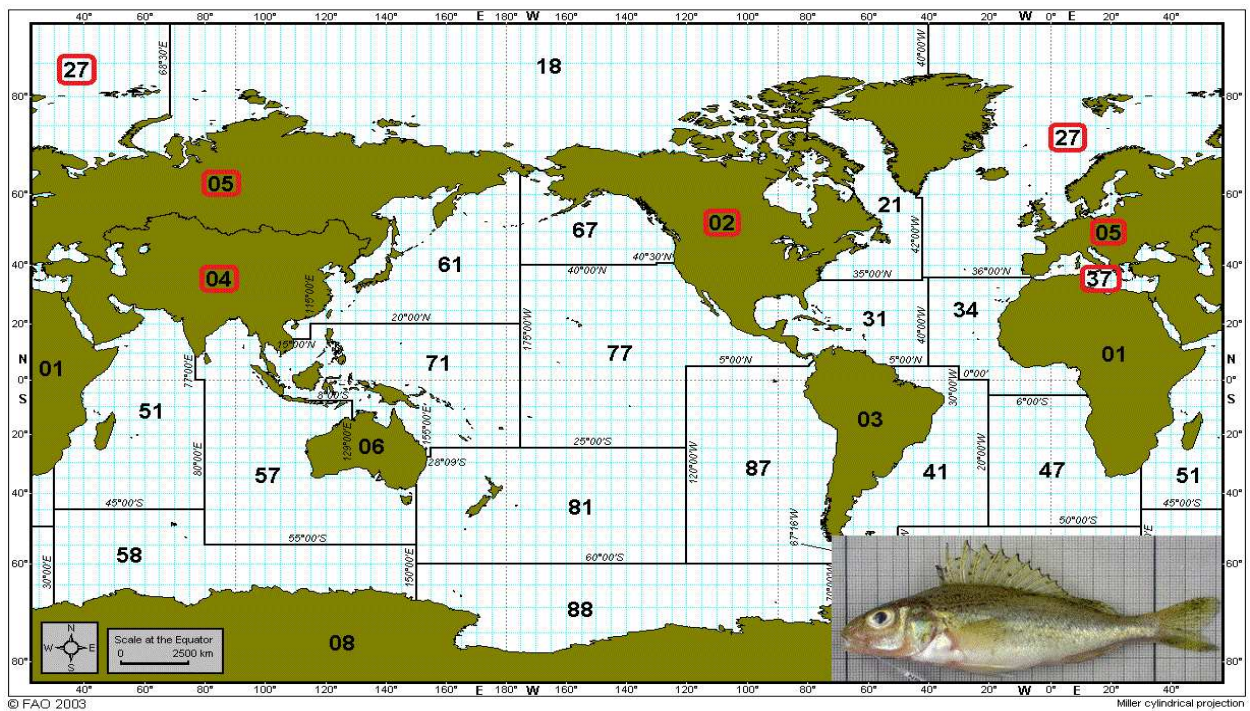


Figura 31: Zone di pesca FAO per l'*Acerina* (*Gymnocephalus cernua*) (FAO, 2003; FishBase, 2023; Kaschner *et al.*, 2023)

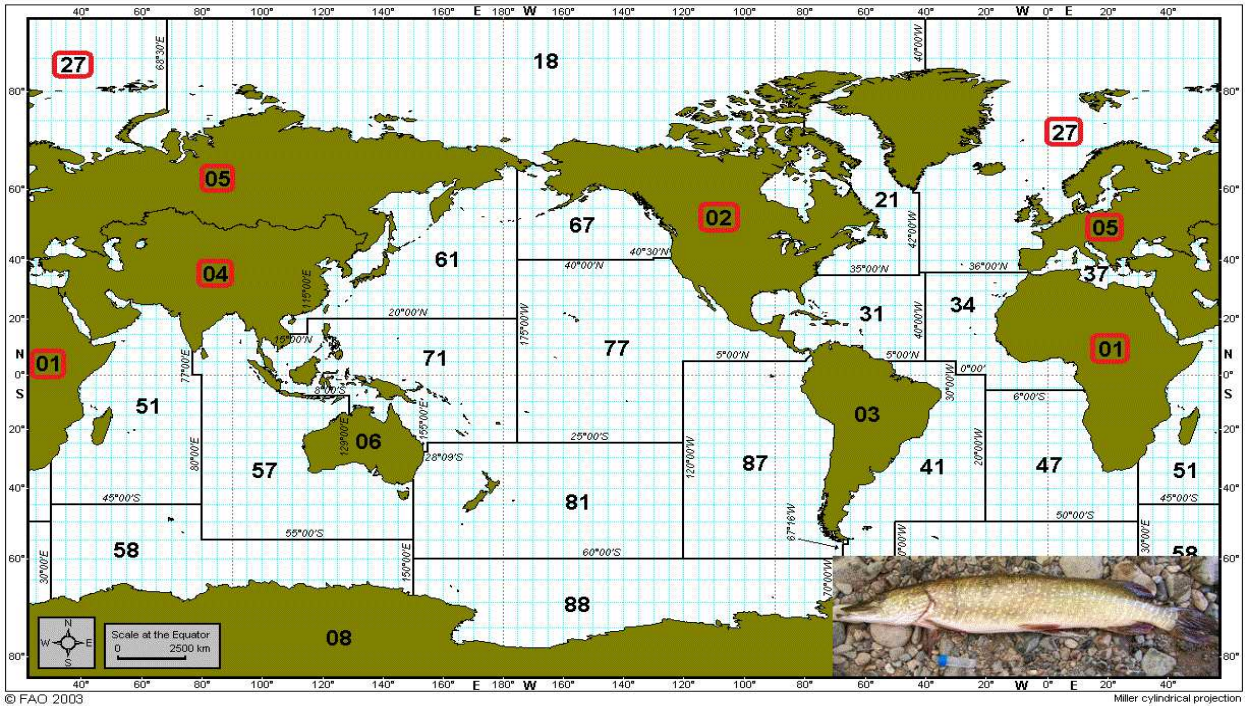


Figura 32: Zone di pesca FAO per il Luccio (*Esox lucius*) (FAO, 2003; FishBase, 2023; Kaschner et al., 2023)

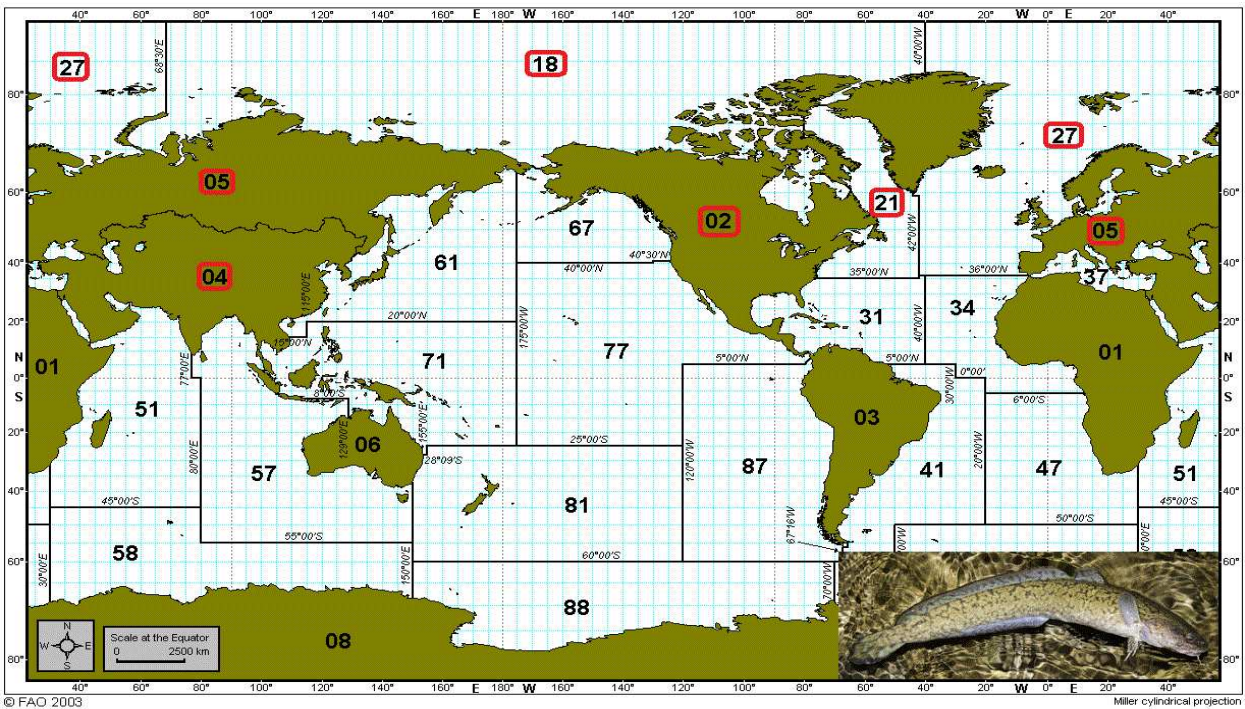


Figura 33: Zone di pesca FAO per la Bottatrice (*Lota lota*) (FAO, 2003; FishBase, 2023; Kaschner et al., 2023)

Nonostante la maggior parte di queste specie sia di interesse commerciale e pertanto possa essere reperita sul mercato, solo alcune si possono trovare in natura nelle acque del territorio italiano (autoctone o alloctone).

Per le specie oggetto di pesca nazionale, viene fornita una breve descrizione morfologica, l'inquadramento tassonomico e la rispettiva valutazione del rischio di estinzione da parte dell'IUCN.

L'IUCN acronimo di *International Union for Conservation of Nature* è l'organizzazione che, a livello mondiale, si occupa della valutazione e dell'assegnazione ad una classe di rischio di estinzione delle varie specie animali. Secondo la classificazione più recente, risalente al 2001 esistono 11 classi di rischio:

- EX: estinta, applicata alle specie per le quali si ha la definitiva certezza che anche l'ultimo individuo sia deceduto;
- EW: estinta in ambiente selvatico, assegnata alle specie per le quali non esistono più popolazioni naturali ma solo individui in cattività;
- RE: estinta nella Regione, specie estinte nell'area di valutazione ma ancora presenti in natura altrove;
- CR, EN, VU: in pericolo critico (CR), in pericolo (EN) e vulnerabile (VU). Queste specie rappresentano delle priorità di conservazione, perché senza interventi specifici mirati a neutralizzare le minacce nei loro confronti, e in alcuni casi a incrementare le loro popolazioni, la loro estinzione è una prospettiva concreta;
- NT: quasi minacciata, prossima a rientrare in una delle categorie di minaccia;
- LC: minor preoccupazione, adottata per le specie che non rischiano l'estinzione nel breve o medio termine;
- DD: carente di dati, non si hanno sufficienti informazioni per valutarne lo stato;
- NA: non applicabile, la specie in oggetto non può essere inclusa tra quelle da valutare (per esempio se è introdotta o se la sua presenza nell'area di valutazione è marginale);
- NE: non valutata (IUCN, 2001).

3.5.1 *Perca fluviatilis*

Perca fluviatilis (Linnaeus, 1758), comunemente chiamato Pesce Persico, Persico Reale o Persico (Figura 34) è un osteitto appartenente all'ordine *Perciformes* e alla famiglia *Percidae*. È una specie introdotta in Italia dall'Est Europa e pertanto la valutazione dello stato di conservazione è Non Applicabile (NA) (IUCN, 2013d).

Distinguibile dalle altre specie di *Percidae* presenti in Europa per la colorazione giallo-rossa delle pinne ventrali ed anali, una macchia scura sulla parte posteriore della prima pinna dorsale e 5-8 barre a forma di Y sui fianchi. Presenta inoltre una linea laterale singola continua e 1-2 spine anali (Kottelat e Freyhof, 2007).

Può raggiungere 60 cm di lunghezza (femmine generalmente di dimensioni maggiori dei maschi) con una media di 20 cm (Kottelat e Freyhof, 2007).

La vita media è di 6 anni (può arrivare a 21 anni); il suo habitat, estremamente vasto, comprende laghi, fiumi di medie dimensioni ed estuari (Kottelat e Freyhof, 2007).

Le larve e gli stadi giovanili si cibano di invertebrati planctonici, gli esemplari adulti sono predatori opportunistici che consumano qualsiasi preda disponibile per la loro taglia (Kottelat e Freyhof, 2007).



Figura 34: Pesce persico (*Perca fluviatilis*) (A. Hartl in Kottelat e Freyhof, 2007)

3.5.2 *Gymnocephalus cernua*

Gymnocephalus cernua (Linnaeus, 1758), comunemente chiamato Acerina (Figura 35), è un osteitto appartenente all'ordine *Perciformes* e alla famiglia *Percidae*. È una specie

introdotta frammista a materiali di semina ufficiale di origini centro europee e pertanto la valutazione dello stato di conservazione è Non Applicabile (NA) (IUCN, 2013b).

Distinguibile dalle altre specie di *Gymnocephalus* per la larghezza pari al 24-27% della lunghezza standard (pari a 7 cm), per i fianchi giallastri con numerose ed irregolari macchie nere, per gli 11-16 raggi della pinna dorsale e per l'opercolo dotato di una spina (Kottelat e Freyhof, 2007).

Le femmine possono arrivare a 10 anni di vita mentre i maschi a 7. Il suo habitat comprende laghi eutrofici, fiumi (dove è più presente negli estuari) e laghi salmastri dove è in grado di tollerare una salinità pari al 10-12%. Predilige acque ferme o con poca corrente, senza vegetazione e con fondo morbido. Negli habitat condivisi con *P. fluviatilis* tende a localizzarsi nelle acque più profonde (Kottelat e Freyhof, 2007).

Si ciba di larve di chironomidi bentonici, anfipodi, zooplancton e piccoli pesci (Kottelat e Freyhof, 2007).



Figura 35: Acerina (*Gymnocephalus cernua*) (Kottelat e Freyhof, 2007)

3.5.3 *Lota lota*

Lota lota (Linnaeus, 1758), comunemente chiamato Bottatrice (Figura 36), è un osteitto appartenente all'ordine *Gadiformes* e alla famiglia *Lotidae*. La valutazione dello stato di conservazione è carente di dati (DD) (IUCN, 2013c).

Distinguibile da tutte le altre specie di acqua dolce europee per la presenza di un barbiglio centrale sulla mandibola e per l'origine della pinna ventrale cranialmente alla pinna pettorale. Presenta due pinne dorsali e 64-84 raggi nella pinna anale. È di colore marrone

scuro, marmorizzato; la taglia standard è di circa 1 metro per un peso di 24kg (Kottelat e Freyhof, 2007).

Il suo habitat comprende laghi di grandi dimensioni e corsi d'acqua ben ossigenati, estuari dei grandi fiumi di pianura e piccoli corsi d'acqua di montagna. Durante la stagione estiva predilige acque profonde (Kottelat e Freyhof, 2007).

Specie vitale anche durante l'inverno (al di sotto del ghiaccio di superficie) con temperature dell'acqua di 11-13°C, a temperature di circa 20°C diventa meno attiva e riduce il consumo di cibo (Kottelat e Freyhof, 2007).

Le larve si cibano di zooplancton e piccoli invertebrati, mentre gli stadi giovanili e adulti si cibano di grandi invertebrati e piccoli pesci (Kottelat e Freyhof, 2007).



Figura 36: Bottatrice (*Lota lota*) (A. Hartl in Kottelat e Freyhof, 2007)

3.5.4 *Esox lucius*

Esox lucius (Linnaeus, 1758), comunemente chiamato Luccio (Figura 37), è un osteitto appartenente all'ordine *Esociformes* e alla famiglia *Esocidae*. Di origini centro europee, la specie è stata introdotta in Italia per ragione connesse alla pesca professionale e sportiva e pertanto la valutazione dello stato di conservazione è Non Applicabile (NA) (IUCN, 2013a).

Distinguibile da tutte le altre specie di acqua dolce europee per il muso allungato, la larga apertura buccale e per l'origine della pinna dorsale di poco craniale all'origine della pinna anale. La taglia arriva a 1,3 metri (Kottelat e Freyhof, 2007).

Il suo habitat comprende una grande varietà di corsi d'acqua che presentano vegetazione sommersa stagionalmente. Si ciba di vari piccoli vertebrati, generalmente pesci, grandi invertebrati come crostacei decapodi ed è inoltre noto per il cannibalismo. Il cannibalismo è così frequente in questa specie che il tasso di sopravvivenza dei giovani lucci è

direttamente correlato al numero di adulti presenti nell'area, oltre alla presenza di vegetazione sommersa che viene sfruttata come riparo (Kottelat e Freyhof, 2007).

In alcuni laghi, a seguito della sua introduzione e della forte predazione operata dalla specie, è rimasto l'unico pesce vivente. In questi casi gli stadi giovanili si cibano di invertebrati e piccoli vertebrati terrestri, mentre gli adulti sono principalmente cannibali (Kottelat e Freyhof, 2007).

Le altre specie di pesci evitano le zone in cui si trovano feci di lucci, in quanto queste contengono un ferormone di allarme. In virtù di questo *E. lucius* deposita le sue feci distanti dal territorio in cui si ciba (Kottelat e Freyhof, 2007).



Figura 37: Luccio (*Esox lucius*) (A. Hartl in Kottelat e Freyhof, 2007)

3.6 La situazione epidemiologica in Italia

Nonostante la malattia sia stata inserita nella lista delle malattie denunciabili dall'ormai abrogato Regolamento di Polizia Veterinaria (1954), in Italia, la parassitosi causata dal genere *Dibothriocephalus*, in virtù del limitato numero di casi, è sempre stata considerata un problema di salute pubblica di natura minore (Menconi *et al.*, 2023).

Negli ultimi vent'anni si è assistito ad un aumento nel numero di casi osservati in Italia, Svizzera e Francia poiché, di fatto, la zona endemica del parassita è costituita dai grandi laghi alpini di questi tre Paesi (Tabella 2) (Menconi *et al.*, 2021, 2023; Terramocci *et al.*, 2001).

Vari lavori di ricerca hanno confermato nel corso degli anni l'elevata prevalenza di larve plerocercoidi appartenenti a *D. latus* nei pesci dei laghi alpini italiani che, specialmente nel pesce persico (*P. fluviatilis*), ha raggiunto il 46,5% nel Lago di Como (Wicht *et al.*, 2009a), ed il 22,8% nel Lago d'Iseo (Radačovská *et al.*, 2019). È stato inoltre osservato che la prevalenza del parassita nei pesci subiva oscillazioni importanti nel corso degli anni, anche a seconda

del luogo dove venivano effettuati i campionamenti: dal 7,6% al 22,8% nel Lago d'Iseo e dal 18,7% al 46,5% nel Lago di Como (Wicht *et al.*, 2009; Radačovská *et al.*, 2019 Menconi *et al.*, 2023).

Per quanto riguarda il Lago di Garda, in uno studio condotto tra settembre 2010 e febbraio 2011 sono stati campionati 170 pesci (154 esemplari di Pesce persico (*P. fluviatilis*), 4 esemplari di Luccio (*E. lucius*), 2 esemplari di Bottatrice (*L. lota*) e 10 esemplari di Coregone (*Coregonus lavaretus*) che sono risultati negativi per la presenza di larve plerocercoidi di *D. latus* (Bianchini *et al.*, 2012).

In un secondo studio, condotto tra gennaio e novembre 2013, è stata confermata l'assenza di larve plerocercoidi nei pesci del Lago di Garda ed è stata notata l'assenza del parassita anche nei pesci del Lago di Piediluco (Gustinelli *et al.*, 2014).

Paese	Bacino	Anno	Specie interessata	P/N	Indici parassitologici			Bibliografia
					P%	IM	AM	
Italia - Svizzera	Lago Maggiore	-	<i>P. fluviatilis</i>	24/309	7,8	1	0,72	(Peduzzi e Boucher-Rodoni, 2001)
Italia	Lago d'Aorta	-	<i>P. fluviatilis</i>	5/15	33,3	1	0,33	
Italia	Lago di Como	2005/2007	<i>P. fluviatilis</i>	183/609	30	1,25	-	(Wicht, Limoni, <i>et al.</i> , 2009)
Italia - Svizzera	Lago Maggiore	2005-2008	<i>P. fluviatilis</i>	123/880	4	-	-	(Wicht, Gustinelli, <i>et al.</i> , 2009b)
Italia	Lago d'Iseo	2013-2014	<i>P. fluviatilis</i>	35/458	7,6	1,29	0,1	(Gustinelli <i>et al.</i> , 2016)
			<i>L. lota</i>	1/26	3,8	0,12	3	
			<i>E. lucius</i>	5/7	71,4	16,4	11,71	
	Lago di Como	2013-2014	<i>P. fluviatilis</i>	108/426	25,4	1,24	0,31	
			<i>L. lota</i>	2/55	3,6	1,5	0,05	
			<i>E. lucius</i>	16/19	84,2	28,25	23,79	
Lago Maggiore	2013-2014	<i>P. fluviatilis</i>	42/635	6,6	1,05	0,07		
		<i>E. lucius</i>	1/1	100	1	1		
Italia	Lago d'Iseo	2017	<i>P. fluviatilis</i>	19/148	12,8	-	-	(Radačovská <i>et al.</i> , 2019)
		2018	<i>P. fluviatilis</i>	53/232	22,8	-	-	
	Lago di Como	2017	<i>P. fluviatilis</i>	7/46	15,2	-	-	
Italia - Svizzera	Lago Maggiore	2017	<i>P. fluviatilis</i>	8/48	16,7	-	-	
Italia	Lago d'Iseo	2019	<i>P. fluviatilis</i>	39/598	6,5	1,07		(Menconi, Pastorino, <i>et al.</i> , 2020)
Italia	Lago d'Iseo	2020	<i>P. fluviatilis</i>	45/550	8,1	-	-	(Menconi <i>et al.</i> , 2021b)

Tabella 2: Prevalenza di *D. latus* nei laghi alpini italiani (Menconi *et al.*, 2023b) P/N: n° campioni positivi/n° campioni totali, Legenda: P: prevalenza IM: intensità media o numero di parassiti medio presente per ogni ospite infestato, AM: abbondanza media o numero di parassiti medio presente in tutti gli ospiti (infestati e non)

In uno studio del 2021 (Menconi *et al.*), è stata dimostrata, attraverso punti di campionamento georeferenziati, una correlazione positiva tra la quantità di *E. coli* nelle acque e la prevalenza d'infestazione di *D. latus* negli ospiti secondari, mettendo in evidenza la necessità di trattare le acque di scarico in maniera corretta al fine di controllare la presenza del parassita nell'ambiente (Menconi *et al.*, 2023).

La Finlandia fornisce un esempio importante per quanto concerne il trattamento delle acque. Infatti, fino agli anni '50 presentava un'incidenza di difillobotriasi umana superiore al 20% dell'intera popolazione, con valori che raggiungevano il 100% nelle popolazioni residenti nella zona orientale del Paese; attraverso la canalizzazione sistematica degli scarichi fognari ed il trattamento delle acque reflue, ha raggiunto in vent'anni valori di incidenza rispettivamente del 2 e del 10% (Dick *et al.*, 2001; Bianchini *et al.*, 2012).

Per quanto riguarda le specie provenienti da acquacoltura, dopo un lavoro di ricerca durato due anni (2016-2018) in cui sono stati prelevati 4.728 pesci appartenenti a tre diverse specie (Trota iridea: *Oncorhynchus mykiss*; Branzino: *Dicentrarchus labrax*; Orata: *Sparus aurata*) non è stato trovato un singolo caso di infestazione a carico di questi ospiti secondari (Gustinelli *et al.*, 2021).

Questi dati indicano inoltre, secondo il parere degli autori, che il rischio di infestazione derivante dal consumo di queste specie allevate sia trascurabile e che, pertanto, potrebbero essere considerate equiparabili a *S. salar* nel Regolamento (CE) 1276/2011 (Commissione Europea, 2011) ed usufruire quindi dell'esenzione dal congelamento obbligatorio per i prodotti destinati ad essere consumati crudi (Gustinelli *et al.*, 2021).

4 La malattia nell'uomo

I parassiti del genere *Dibothriocephalus* sono responsabili della malattia zoonosica conosciuta come difillobotriasi o botriocefalosi intestinale (Ministero della Salute, 2007).

La malattia diviene clinicamente manifesta in 15-45 giorni dall'ingestione della larva plerocercioide, ed è generalmente segnalata dopo che l'ospite ha notato catene di proglottidi nelle feci (Scholz *et al.*, 2009).

Il cestode adulto permane, avvolto in spirali, nell'intestino tenue dell'ospite finale. Il parassita si ancora alla parete intestinale a livello dell'ileo e, meno frequentemente, a livello di digiuno o altre zone (Scholz *et al.*, 2009). Raramente è possibile che si ancori a livello del dotto biliare (Marty, 2000; Scholz *et al.*, 2009).

Nonostante i parassiti del genere *Dibothriocephalus* possano raggiungere dimensioni notevoli e avere quindi anche effetti meccanici sull'ospite, molte infestazioni risultano completamente asintomatiche (Kamiya e Ooi, 1991; Marty, 2000; Scholz *et al.*, 2009).

Il parassita, all'interno dell'ospite finale, induce modificazioni nelle concentrazioni di neuromodulatori nei tessuti e nel siero che, a loro volta, modulando la risposta neuroendocrina fisiologica causano cambiamenti nel funzionamento del tratto gastrointestinale determinando aumento delle secrezioni e della motilità intestinale. Il danno è mediato dall'induzione di mastociti e dalla degranulazione di granulociti eosinofili che portano al rilascio di citochine proinfiammatorie (Dezfuli *et al.*, 2007; Durrani *et al.*, 2022).

Circa una infezione su cinque presenta diarrea, dolore addominale o dispepsia, mentre altri sintomi possono includere costipazione, stanchezza, anemia perniziosa, mialgia, vertigini e, in alcuni casi, cefalea e reazioni allergiche (von Bonsdorff, 1948; Garcia, 2007; Scholz *et al.*, 2009; Durrani *et al.*, 2022). In alcuni casi, in seguito ad infestazioni massive, può presentarsi occlusione intestinale e le proglottidi libere nel lume intestinale possono causare colecistiti e colangiti. È inoltre stato riportato che i soggetti infestati da *Dibothriocephalus* spp. possano manifestare dolore alla lingua durante la consumazione di altri alimenti (Scholz *et al.*, 2009).

Infestazioni prolungate o massive possono portare ad anemia megaloblastica dovuta alla dissociazione del complesso vitamina B12-fattore intrinseco (fattore gastrico antipernicioso) mediata dal parassita nel lume intestinale, che rende la vitamina B12 non

disponibile all'utilizzo da parte dell'ospite ma viene utilizzata dal parassita stesso, che riesce ad assorbirla circa 100 volte più velocemente dell'apparato intestinale dell'uomo (Vuylsteke *et al.*, 2004; Scholz *et al.*, 2009; Durrani *et al.*, 2022).

Nonostante circa il 40% dei soggetti infestati presenti bassi livelli di vitamina B12, solo il 2% o meno sviluppa forme cliniche di anemia (ipercromica e macrocitica) che possono essere associate a piastrinopenia e linfocitopenia. Nel lungo periodo la mancanza di vitamina B12 può causare danni al sistema nervoso, come neuropatie periferiche o lesioni degenerative al sistema nervoso centrale (Scholz *et al.*, 2009).

L'anemia perniciosa associata ad infestazioni da *Dibothriocephalus* spp. è riportata raramente al giorno d'oggi e la vitamina B12 tende a tornare a livelli normali nel volgere di qualche mese dalla risoluzione della malattia (Donoso-Scroppo *et al.*, 1986; Scholz *et al.*, 2009).

La gravità della malattia è direttamente correlata alla quantità di parassiti presenti nell'organismo ed ai metaboliti prodotti dagli stessi (Garcia, 2007; Scholz *et al.*, 2009).

Nonostante i sintomi non destino, nella maggior parte dei casi, preoccupazione è bene notare che la malattia può avere un impatto psicologico notevole sul paziente e sui familiari in quanto le uova vengono espulse per un periodo prolungato di tempo (Scholz *et al.*, 2009).

Nel 2001, in Francia, è stato calcolato, attraverso lo studio di otto casi clinici nel periodo 1993-2000, che i sintomi gravi causati dall'infestazione da *Dibothriocephalus* spp. possono portare ogni singolo paziente a richiedere visite specialistiche e analisi per una spesa complessiva pari a circa 400€ (che, ricalcolata in base al valore d'inflazione di novembre 2023, corrisponderebbe a circa 632€) (Desvois *et al.*, 2001; Scholz *et al.*, 2009; ISTAT, 2023).

4.1 Diagnosi

Il *gold standard* per la diagnosi delle infestazioni da *Dibothriocephalus* spp. è rappresentato dall'identificazione di uova o proglottidi nelle feci. Le uova in genere sono presenti in numero elevato e non c'è quindi la necessità di concentrare i campioni per l'esecuzione del test diagnostico (Durrani *et al.*, 2022).

Esami emocromocitometrici completi e una valutazione della concentrazione sierica della vitamina B12 possono aiutare a diagnosticare anemia megaloblastica, pancitopenia,

eosinofilia, carenza di vitamina B12 ma, ad oggi, non esiste un test sierologico diagnostico per le infestazioni causate da questo genere di parassiti (Durrani *et al.*, 2022).

Le indagini radiologiche non sono generalmente necessarie anche se, secondo alcuni Autori (Kitamoto *et al.*, 2019; Hase *et al.*, 2023), l'ecografia può essere utilizzata nella diagnosi in tempo reale. All'indagine ecografica il parassita si presenta come una struttura iperecogena a forma di fiocco, che si muove liberamente nel lume intestinale (Durrani *et al.*, 2022).

Altri metodi utilizzabili nella diagnosi sono l'endoscopia, la risonanza magnetica nucleare e la colonscopia ma vengono considerati tutti inappropriati come strumento di indagine primario a causa della loro invasività e del costo elevato (Durrani *et al.*, 2022).

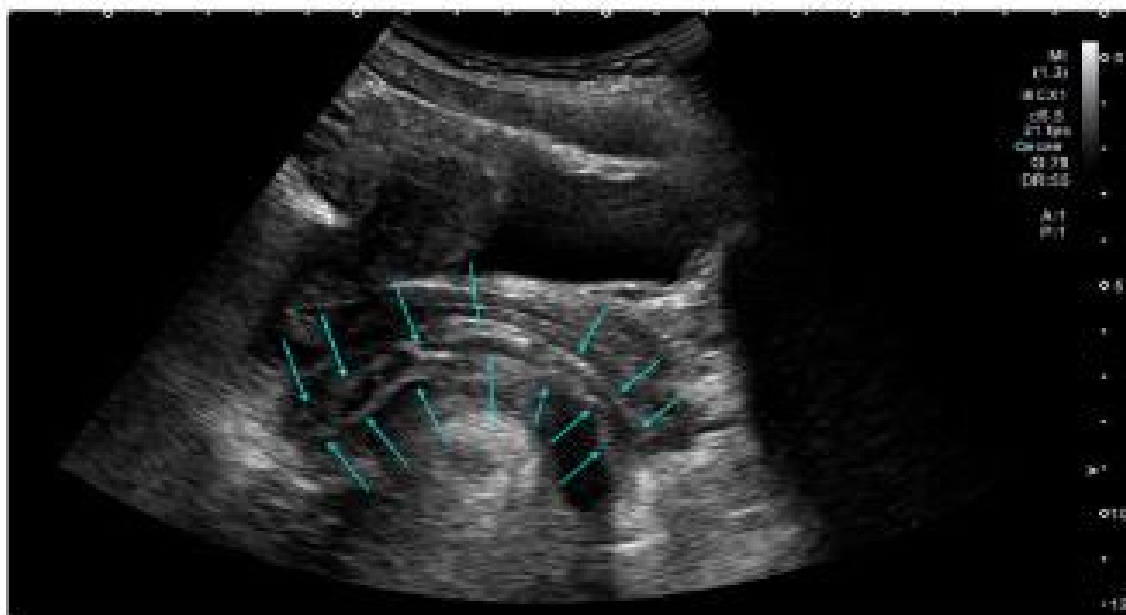


Figura 38: Immagine ecografica di *Dibothriocephalus* spp. nel lume intestinale (Hase *et al.*, 2023)

4.2 Prognosi e complicazioni

La prognosi è generalmente fausta dal momento che la malattia si manifesta solitamente in forma lieve ed il trattamento è efficace. Si può tuttavia incorrere in complicazioni principalmente in pazienti che presentano infestazioni massive, malattie concomitanti o ostruzioni intestinali. Le complicazioni principali sono dovute a siti di ancoraggio dello scolice del parassita diversi dalla norma (ad esempio, in corrispondenza del dotto biliare) o ad un elevato carico parassitario che causa occlusione intestinale, appendicite subacuta, colecistite e colangite con successivo intervento chirurgico (Durrani *et al.*, 2022).

In caso di prolungate gravi carenze di vitamina B12 possono verificarsi insufficienza cardiaca e manifestazioni neurologiche che portano a dispnea, cefalea, parestesie, modificazioni della capacità visiva e atassia (Durrani *et al.*, 2022).

Problemi duraturi di malassorbimento intestinale dopo la risoluzione della malattia possono verificarsi più frequentemente in pazienti che presentavano tale sintomo precedentemente all'infestazione (ad esempio, in pazienti affetti da HIV) o nei casi di malnutrizione preesistente (Durrani *et al.*, 2022).

4.3 Terapia

Il *gold standard* nella terapia contro le infestazioni da *D. latus* è rappresentato dall'utilizzo di praziquantel, efficace anche in singola dose a 25mg/kg. *D. nihonkaiensis* è più sensibile a questo principio attivo rispetto a *D. latus* (Scholz *et al.*, 2009). In ogni caso, anche se una singola dose di 5-10mg/kg si è dimostrata efficace e sicura, è preferibile utilizzare il dosaggio più elevato di 25-50mg/kg (Ohnishi e Kato, 2003; Ohnishi e Murata, 1993; Scholz *et al.*, 2009).

Gli effetti collaterali del praziquantel sono solitamente lievi e non richiedono ulteriori trattamenti anche se, nei casi di infestazione massiva, possono essere più frequenti e severi: questi includono vertigini, cefalea, dolore addominale con o senza nausea, febbre, malessere generale e orticaria (Groll, 1980). Tali sintomi possono comunque presentarsi di per sé anche con l'infestazione (Scholz *et al.*, 2009).

La niclosamide rappresenta il farmaco alternativo al praziquantel nella terapia della difillobotriasi; viene utilizzata alla dose di 2g per gli adulti e 1g per i bambini sopra ai 6 anni di età (Scholz *et al.*, 2009). Gli effetti collaterali sono infrequenti dal momento che non viene assorbita dal tratto gastrointestinale ma, anche se il farmaco è disponibile in Italia, nel resto del mondo rimane un principio attivo a disponibilità ridotta (ad oggi risulta infatti approvato ma non disponibile in commercio negli Stati Uniti) (Scholz *et al.*, 2009).

È stato inoltre riportato che il Gastrografin® (sodio amidotrizoato + meglumina amidotrizoato), un mezzo di contrasto utilizzato in diagnostica per immagini, a livello duodenale è capace di causare l'espulsione del parassita, che rimane vivo e nella sua interezza (Yoshida *et al.*, 1999; Scholz *et al.*, 2009).

Quest'ultima terapia non è ritenuta idonea per diversi motivi, quali lo stress causato al paziente, i costi elevati e la necessità di ricorrere ad immagini fluoroscopiche. È considerata utile solo in virtù della possibilità di identificare morfologicamente il parassita (Scholz *et al.*, 2009).

4.4 Casi clinici

Di seguito sono riportati una serie di casi clinici riguardanti infestazioni da parassiti del genere *Dibothriocephalus*. Tuttavia, vista la natura generalmente blanda della malattia, la maggior parte dei casi citati in letteratura non comprende un'identificazione completa del parassita a causa della conservazione non corretta dei campioni (es. conservazione dei campioni in soluzioni non *PCR-friendly*) o per il fatto che, essendo la terapia identica per tutte le specie di questo genere, non si sia ritenuto necessario investire ulteriori risorse nell'identificazione delle uova o dei parassiti adulti rinvenuti nel corso delle analisi.

4.4.1 Il caso dei filetti di pesce persico, Lago di Ginevra, Svizzera

Riportano Jackson e collaboratori (2007) che nel giugno 2006, in Svizzera, in seguito alla diagnosi di infestazione da *D. latus* in due invitati ad una festa di matrimonio in cui, tra le pietanze servite, figuravano dei filetti di Pesce persico crudi (*P. fluviatilis*) si è ritenuto necessario sottoporre nei quattro mesi successivi tutti i 32 invitati alla festa ad un'indagine epidemiologica.

Ad ogni invitato è stato richiesto di compilare un questionario standardizzato riguardante informazioni personali, infestazioni passate con *D. latus*, consumo dei filetti di Pesce persico crudi alla festa, consumo di pesce crudo negli ultimi cinque anni (o entrambe le opzioni), sintomi e presenza o meno di proglottidi visibili nelle feci. Nessuno degli intervistati ha riportato di aver consumato pesce crudo prima o dopo l'evento. Indipendentemente dai dati recuperati con i questionari, tutti gli invitati sono stati sottoposti ad un esame delle feci per la ricerca di uova e proglottidi al Laboratorio di Parassitologia dell'Università di Ginevra. Per "caso confermato" si è inteso quello riferibile ad un ospite che aveva consumato filetti di Persico crudo al matrimonio e ha riportato la presenza di proglottidi o uova nelle feci all'esame copromicroscopico. Per "caso probabile" si è, invece, considerato quello riferibile ad un ospite che aveva consumato filetti di Persico crudo al matrimonio e ha

riportato materiale nastriforme nelle feci pur non avendo consumato carne cruda di bovino, maiale o pesce negli ultimi 5 anni ed in assenza di esami copromicroscopici.

Dei 26 invitati che avevano consumato Pesce persico crudo, sette sono stati considerati come “casi confermati” ed uno come “caso probabile” (30,8%).

L’esame copromicroscopico ha, infatti, rilevato uova in sette pazienti e uova e proglottidi in tre pazienti.

Le persone infestate avevano un’età mediana di 34 anni (range 24-60 anni) e nella maggior parte dei casi, erano di sesso femminile.

L’intervallo medio tra l’ingestione del pesce parassitato e la prima osservazione di proglottidi visibili è stato di 40 giorni. Degli otto pazienti, nessuno ha manifestato sintomi nei primi sette giorni, sei (75%) hanno manifestato sintomi dopo 20-91 giorni (mediana 56 giorni) e due sono rimasti asintomatici nonostante la presenza di frammenti del parassita nelle feci.

I sintomi riportati nei sei pazienti sintomatici sono stati diarrea (6), stanchezza (5), dolore addominale (4), nausea (3), perdita di peso (2), vomito e vertigini (1). Nessun paziente ha avuto bisogno di cure mediche urgenti o usufruito di permessi di malattia dal lavoro.

Sette pazienti sono stati trattati con una singola dose di praziquantel 10mg/kg senza riportare effetti collaterali ed una paziente è stata trattata con 400mg/giorno di albendazolo per tre giorni, prima rientrare nell’indagine epidemiologica (caso probabile). In seguito tutti i pazienti sono risultati asintomatici e hanno presentato esami copromicroscopici negativi nelle 2-10 settimane post-trattamento.

4.4.2 Il caso del salmone del Pacifico, Cannes, Francia

Secondo Yera e collaboratori (2006) una donna di 44 anni di Cannes, Francia, con un’anamnesi medica non significativa e nessun viaggio recente all’estero, dopo aver consultato il medico di famiglia riportando nausea improvvisa, dolore epigastrico ed abbondante diarrea (17 eventi nelle 24 ore precedenti) è stata sottoposta ad un esame copromicroscopico ed un esame emocromocitometrico dopo 72 ore di malessere continuo.

L’esame emocromocitometrico non ha evidenziato alterazioni ma, all’esame delle feci, sono state individuate uova di *Dibothriocephalus* spp. che, sottoposte a PCR e sequenziamento del DNA in quanto risultavano di dimensioni inferiori a quelle di *D. latus* (41

x 60µm contro 55 x 75µm) sono state identificate, dopo confronto su *GenBank*, come uova di *D. nihonkaiensis*.

Undici giorni dopo i primi sintomi le è stata somministrata una singola dose di praziquantel 10mg/kg. Il mattino successivo al trattamento si è verificata l'espulsione di frammenti del parassita di dimensioni pari a 35cm x 5mm.

In seguito ad un colloquio più approfondito con la paziente è stato appurato che aveva consumato di carpaccio di Salmone tre settimane prima di manifestare i primi sintomi. Il Salmone, acquistato al mercato del pesce di Cannes, è stato tracciato grazie all'etichetta e identificato come *Oncorhynchus keta* (Salmone keta) pescato nel Golfo dell'Alaska (Canada) e posto in vendita dopo 72 ore dalla cattura.

4.4.3 Il caso del salmone del Pacifico, Île-de-France, Francia

Paugam e Yéra (2021) hanno riportato di recente che un ragazzo di 17 anni residente *nell'Île-de-France*, durante una visita per teniasi ricorrente, ha riportato di aver espulso, in tre occasioni separate, frammenti di parassita. Nella prima occasione, 14 mesi prima della visita, aveva espulso un frammento di parassita di 1 metro di lunghezza, quindi, 4 mesi dopo un altro frammento di parassita della lunghezza di 5 metri.

A seguito del secondo episodio è stato trattato con albendazolo 400mg/giorno per tre giorni. In occasione della visita parassitologica, il paziente ha portato con sé un frammento di parassita della lunghezza di 70cm (Figura 39) espulso nelle 48 ore precedenti e ha riferito di sperimentare nausea ricorrenti al momento della deglutizione di acqua o saliva pur in assenza di altri sintomi.

Durante la visita il paziente ha riferito di consumare abitualmente Salmone crudo (almeno due volte a settimana) e di consumare occasionalmente pesce di lago (*Salvelinus fontinalis*) durante il periodo estivo.

Ad un primo esame visivo, le proglottidi sono risultate troppo ampie per essere ricondotte a *Tenia saginata* o *Tenia solium* e si è quindi proceduto a sequenziarne il DNA che ha permesso di identificarle come proglottidi di *D. nihonkaiensis*.

Il paziente è stato quindi trattato con una singola dose di praziquantel 25mg/kg. Quattro settimane dopo, nel primo *follow-up*, l'esame delle feci è risultato negativo e, all'ultimo *follow-up* dopo otto mesi dalla prima visita, il paziente non ha riferito sintomi clinici.



Figura 39: Campione espulso dal paziente e consegnato ai sanitari (Paugam e Yéra, 2021)

4.4.4 Il caso del salmone del Pacifico, tra Svizzera e Giappone

Shimizu e collaboratori (2008) hanno riportato che un bambino giapponese di 5 anni, residente in Svizzera con la famiglia da diversi anni e con un'anamnesi medica non significativa, aveva espulso proglottidi con le feci in assenza di altri sintomi concomitanti. In quell'occasione i familiari non avevano ritenuto importante consultare un medico. A due settimane di distanza, durante un viaggio in Giappone, la madre dopo aver notato un altro parassita lungo 50 cm nelle feci del figlio, lo ha rimosso e portato il bambino all'ospedale della città di Fujisawa, nella Prefettura di Kyoto.

Dopo aver eseguito un esame delle feci e aver riscontrato uova riconducibili a *Dibothriocephalus* spp. , al bambino è stata somministrata una singola dose di praziquantel 12mg/kg, seguita da una soluzione di magnesio citrato. In seguito alla terapia, il paziente ha espulso un parassita della lunghezza di 4 metri completo di scolice (Figura 40).

Dopo un colloquio con la madre, che ha riportato che in famiglia non era mai stato consumato pesce crudo delle specie di Luccio (*Esox lucius*), Pesce persico (*Perca fluviatilis*) o Salmerino (*Salvelinus* spp.), si è ipotizzato che il probabile vettore del parassita fosse da ricondurre al Salmone acquistato nei mercati locali della Svizzera.

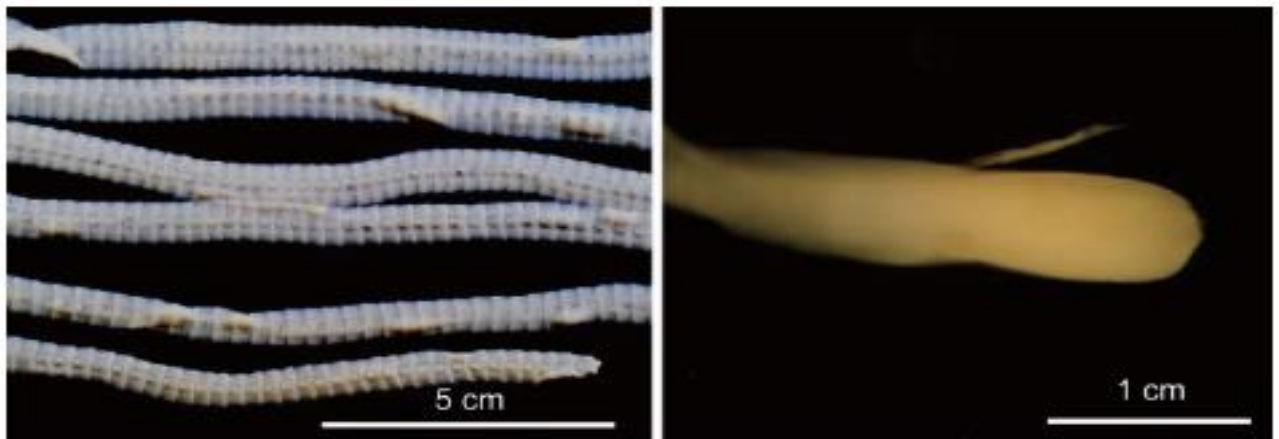


Figura 40: Parassita intero espulso dal bambino di 5 anni (a sinistra) e dettaglio dello scolice del parassita (a destra) (Shimizu et al., 2008)

4.4.5 Il caso della Spagna

Vidal-Moreso e collaboratori (2019) hanno riferito che un bambino di 4 anni adottato in Spagna, ma originario della Russia, in cura a Barcellona per uno screening prolungato sulle malattie infettive. Alla prima visita il paziente, che non soffriva di allergie o altre patologie, si presentava asintomatico ma con una lieve distensione addominale senza algia. I test per epatite B e C, tubercolosi, HIV e lo screening per i parassiti intestinali attraverso concentrazione in formalina-etere dei campioni fecali erano negativi. Al primo esame emocromocitometrico, risultato nella norma ma con una lieve eosinofilia ($0,6 \times 10^9/L$), è stato deciso di ripetere i test per i parassiti intestinali con tre nuovi campioni, risultati tutti negativi.

Durante i controlli del terzo anno di *follow-up*, il paziente riportava continui movimenti involontari e occasionali parestesie degli arti inferiori nelle ore notturne. Si è quindi deciso di ripetere gli esami del sangue con particolare attenzione alla sideremia e alla concentrazione di vitamina B12, ma l'unico valore anormale riscontrato era una lieve eosinofilia ($0,9 \times 10^9/L$). Nonostante i sintomi non si fossero più presentati, si effettuò un altro esame delle feci per la ricerca di eventuali parassiti, riscontrando in quell'occasione uova di *D. latus*.

Il paziente è quindi stato trattato con una singola dose di praziquantel e, dopo un'iniziale innalzamento della conta eosinofila, si è avuta una completa remissione dei sintomi.

4.4.6 Il caso di importazione da Bali o Singapore, Svizzera

Marval e collaboratori (2013b) hanno riportato il caso di un bambino di 4 anni residente in Svizzera che, a 12 giorni dal ritorno da un viaggio di 15 giorni a Singapore e Bali con la famiglia, ha cominciato a presentare dolore addominale e feci malformate.

In seguito ad esame copromicroscopico sono state individuate uova riconducibili a *Dibothriocephalus* spp. e proglottidi di forma inusuale (larghezza maggiore della lunghezza e con utero decentrato) (Figura 41). Le proglottidi sono quindi state fissate in etanolo a 70° ed inviate all'Istituto di Parassitologia di Berna e all'Istituto Cantonale di Microbiologia di Bellinzona, dove sono state identificate attraverso tecniche di biologia molecolare.

Dopo aver estratto il DNA genomico da 50mg di proglottidi con il “*DNeasy Blood and Tissue Kit*” (Qiagen), tramite PCR si sono amplificati l'RNA ribosomiale 5.8S, l'RNA ribosomiale 18S e il gene codificante per la subunità 1 della citocromo C-ossidasi (*cox1*). L'identità dei campioni è quindi stata verificata utilizzando il BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) che ha riscontrato un'omologia di sequenza $\geq 99\%$ a livello nucleotidico con i dati di riferimento di *Dibothriocephalus dendriticus*.

Al paziente è stato quindi somministrato mebendazolo, rivelatosi non efficace, dato che a tre settimane dal trattamento erano ancora presenti uova nelle feci. In seguito al trattamento con praziquantel il paziente ha avuto completa remissione dei sintomi. A sei settimane dal trattamento con il secondo principio attivo, non sono stati riscontrati parassiti o uova nelle feci.

In seguito a colloquio con la madre, è stato appurato che il bambino consumava regolarmente Salmone affumicato, comprato sempre nello stesso luogo e dallo stesso produttore. Tale prodotto, identificato come *Salmo salar* allevato in Norvegia e affumicato in Francia, non era mai stato congelato. Il Salmone veniva utilizzato nella preparazione di una salsa casalinga che, durante la preparazione, arrivava a bollire per almeno un minuto, come riferito dalla madre; tuttavia, il bambino aveva l'abitudine di consumare piccoli pezzi del prodotto prima della cottura.

Nell'indagine retrospettiva è stato anche notato che il paziente aveva consumato dei filetti di Pesce persico poco cotti (*P. fluviatilis*) pescato nel Lago di Lemano, in un ristorante vicino

a casa e che, circa una settimana prima di notare le prime proglottidi, aveva consumato del *sushi* in un ristorante svizzero.

Sulla base di tali informazioni è stato stabilito che la fonte di infestazione per il paziente rimaneva incerta, potendo essere ricondotta sia al Salmone norvegese, sia a pesce sconosciuto consumato in Asia o al Pesce persico del ristorante in Svizzera.

Tuttavia, dal momento che *D. dendriticus* non è ancora stato riscontrato nel Pesce persico e che il *sushi* era stato consumato in Svizzera quando i sintomi erano già presenti, la fonte di infestazione più probabile rimaneva legata al consumo di pesce crudo o poco cotto durante il viaggio condotto in Asia.

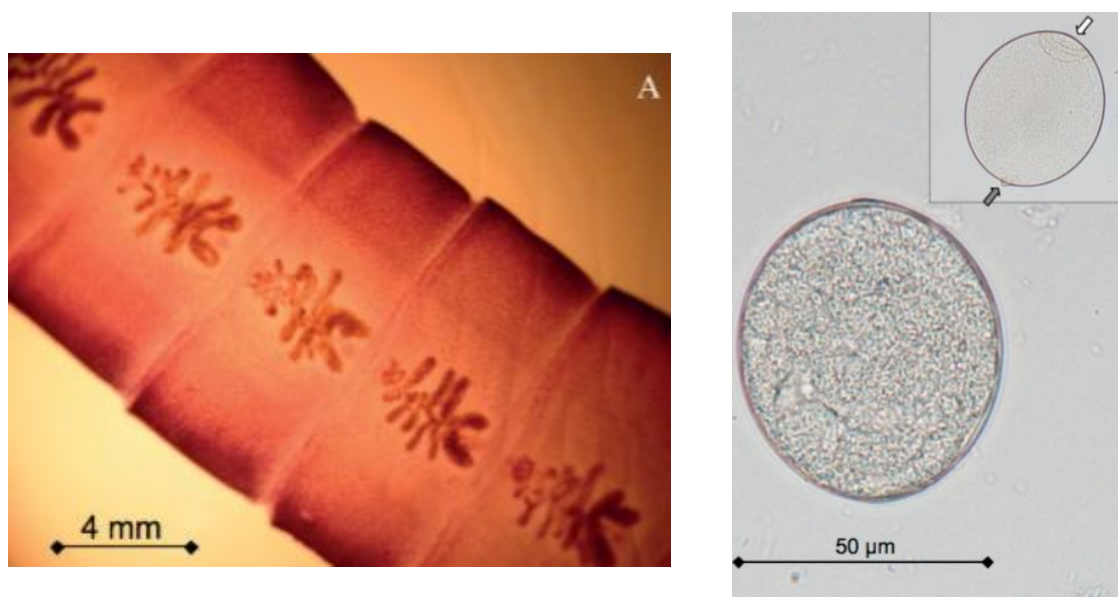


Figura 41: Segmento di proglottide con utero in evidenza (a sinistra) e uovo di *Dibothriocephalus dendriticus* (a destra) (de Marval *et al.*, 2013b)

4.4.7 Il caso del *ceviche* peruviano, Stati Uniti

Secondo Sharma e collaboratori (2018), una donna di 44 anni di origine ecuadoriana/peruviana, residente negli Stati Uniti, in visita al *Bassett Medical Center* di Cooperstown (NY) riferiva algia al quadrante inferiore destro dell'addome perdurante da circa due mesi, in assenza di altri sintomi.

All'esame fisico la paziente presentava algia alla palpazione dell'area interessata e pallore generalizzato. Dopo aver eseguito esami di laboratorio veniva evidenziata una lieve anemia sideropenica e lieve decremento del volume cellulare medio (MCV), mentre folati e vitamina B12 risultavano nella norma.

Dopo aver escluso una causa ginecologica di anemia è stato eseguito un test per la ricerca del sangue occulto nelle feci, che è risultato positivo. Al momento della preparazione per un esame colonscopico la paziente ha espulso un frammento di parassita di 25cm riconducibile ad una tenia, identificato in seguito come *D. latus*.

Nonostante l'espulsione del parassita l'algia non cessava e quindi si è optato per una colonscopia, che ha evidenziato un altro parassita di circa 12cm di lunghezza e 6mm di larghezza ancorato all'interno dell'orifizio appendicolare (Figura 42).

Dato che i tentativi di rimozione endoscopica si sono rivelati infruttuosi, la paziente veniva trattata con 600mg di praziquantel. Successivamente la donna ha riferito crampi addominali lievi per i primi due giorni e la presenza nelle feci di porzioni di parassita della lunghezza di circa 1,5cm. Tre mesi dopo, al *follow-up*, non si riscontravano uova nelle feci e la remissione dei sintomi era completa.

Un'indagine retrospettiva ha rivelato che la paziente aveva consumato regolarmente *ceviche* in Perù qualche mese prima della comparsa dei primi sintomi.



Figura 42: *D. latus* all'interno dell'orifizio appendicolare (Sharma *et al.*, 2018)

4.4.8 Il caso da *sashimi* di tonno e salmone, Giappone

Kitaoka e collaboratori (2020) riferiscono che un ragazzo di 12 anni era stato portato d'urgenza al pronto soccorso del Dipartimento pediatrico dell'Ospedale della città di Yaizu nella prefettura di Shizaku, in Giappone, perché riportava una perdita di peso di 3kg negli ultimi tre mesi, in assenza di altri sintomi. All'ingresso in ospedale presentava un parassita nastriforme, di color crema, parzialmente espulso dall'ano (Figura 43), riconducibile a *Dibothriocephalus* spp. e identificato in seguito a test genetico come *D. nihonkaiensis*.

L'indagine retrospettiva sul paziente ha permesso di stabilire che aveva l'abitudine di mangiare pesce crudo (*sashimi*), nello specifico Tonno e Salmone. Il trattamento con praziquantel ed una soluzione di magnesio citrato ha portato all'espulsione di un parassita adulto lungo 5,5 metri.

Sette mesi dopo, al *follow-up*, il paziente aveva recuperato completamente il peso corporeo e, ad un esame copromicroscopico, non sono state individuate uova del parassita.

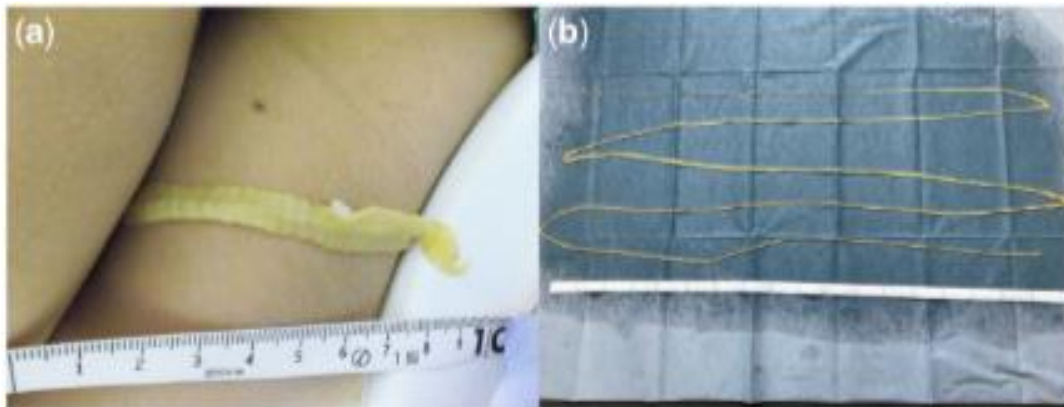


Figura 43: Parassita parzialmente espulso (a) e adulto intero (b) (Kitaoka *et al.*, 2020)

4.4.9 Il caso del marinaio “assaggiatore avventuroso”, Stati Uniti

Reilly (2020) riporta il caso di un marinaio americano di 23 anni, di stanza presso una nave della Marina Militare degli Stati Uniti si è presentato all'ospedale di bordo dopo aver rimosso manualmente dall'ano un “oggetto” nastriforme di colore bianco della lunghezza di 1,2 metri, prima che questo si rompesse ed il resto si ritraesse nella cavità anale (Figura 44).

Il paziente riferiva di crampi al quadrante superiore sinistro dell'addome, appetito altalenante, feci malformate ed una perdita di peso stimata di 9kg nell'ultimo anno. Nell'anno precedente aveva svolto missioni a Guam, in Bahrein, a Dubai, nelle Filippine, a Singapore e alle Hawaii, definendosi al contempo un “assaggiatore avventuroso” e mangiando in più occasioni pesce crudo da venditori ambulanti, pur non sapendo definirne le specie. Inoltre, consumava regolarmente *sushi* e *sashimi* negli Stati Uniti e all'estero.

Dopo un controllo, è stato stabilito che la perdita di peso fosse di 13,6kg ma gli esami di laboratorio completi non hanno rilevato alcuna anomalia e la vitamina B12 è risultata nella norma (928ng/ml, range 200-900ng/ml).

In base alle abitudini alimentari riportate dal paziente, si è deciso per un trattamento empirico con praziquantel alla dose di 10mg/kg.

In seguito alla terapia, i test ripetuti a due mesi di distanza sono risultati negativi.

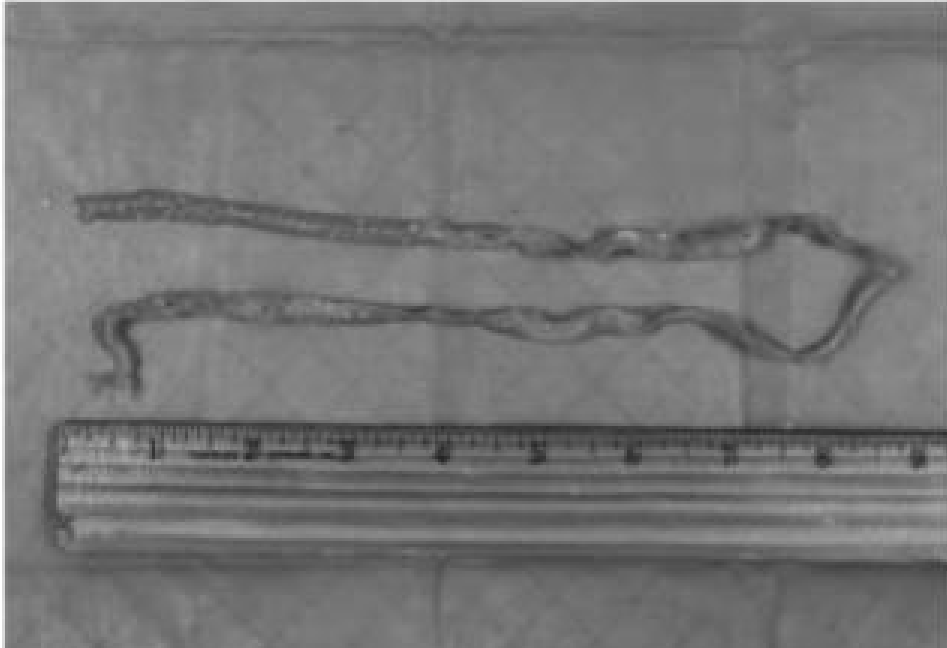


Figura 44: Immagine di una porzione del parassita consegnato dal paziente (scala in pollici) (Reilly, 2020)

4.4.10 Il caso nel bambino di 18 mesi, Canada

Secondo Lopez e collaboratori (2021) un bambino di 18 mesi, precedentemente sano, veniva portato al pronto soccorso del Reparto malattie infettive pediatriche dell'Università di Manitoba, in Canada, perché gli era stato rimosso dall'ano un "oggetto" nastriforme di circa 60cm. In anamnesi il padre riportava che nei cinque giorni precedenti il figlio aveva sofferto di diarrea. Il bambino risiedeva con la famiglia a Winnipeg, non aveva mai preso parte a viaggi all'estero e nessun familiare o animale da compagnia di loro proprietà presentava sintomi simili.

Durante il colloquio con i sanitari era emerso che la dieta del bambino comprendeva pesci in salamoia pescati dal padre in un lago. Durante la visita il bambino non presentava segni di malnutrizione o febbre e alla palpazione addominale, come all'esplorazione rettale, non si notavano alterazioni. Venivano quindi somministrati empiricamente 100mg (10mg/kg) di praziquantel.

Dopo 10 giorni il paziente veniva riportato al pronto soccorso dopo aver notato un altro parassita parzialmente espulso; questo, dopo essere stato inviato al centro parassitologico regionale, è stato identificato come *Dibothriocephalus* spp.

Gli esami copromicroscopici in *follow-up* hanno rivelato la continua presenza di uova ed è stato pertanto necessario ripetere altre due volte il trattamento antiparassitario a dosaggio doppio, nel corso dell'anno successivo.

Nonostante i tre trattamenti, porzioni di parassita sono stati ripetutamente individuati nei pannolini del bambino, che è stato pertanto sottoposto ad una serie di indagini radiologiche con mezzo di contrasto (Gastrografin®) per valutare la possibile rimozione endoscopica del parassita. Dal momento che il paziente ha mal tollerato l'indagine radiografica, si è optato per una combinazione di antiparassitario, purgante e mezzo di contrasto. È stata quindi somministrata una quarta dose di praziquantel (10mg/kg), insieme ad una dose doppia di Gastrografin® e ad una dose di Pico-Salax® (picosolfato di sodio + ossido di magnesio + acido citrico), cui è seguita l'espulsione di circa 3 metri di parassita (Figura 45), seguita dall'espulsione di altri frammenti nei giorni successivi.

A sei settimane dal trattamento sono stati effettuati tre esami copromicroscopici in sequenza, che sono risultati tutti negativi; inoltre, i familiari non hanno più riscontrato porzioni di parassita nelle feci del bambino.



Figura 45: Parassita completo espulso dal paziente (Lopez *et al.*, 2021)

5 Gestione della parassitosi da *Dibothriocephalus* spp.

Scopo delle misure di prevenzione e controllo è interrompere il ciclo vitale del parassita. In linea teorica, ogni passaggio del ciclo è adatto allo scopo ma, nella pratica, ci si concentra su tre elementi principali:

- Prevenzione della contaminazione delle acque;
- Trattamento delle persone infestate dal parassita;
- Prevenzione della trasmissione di larve infestanti dal pesce all'uomo (Scholz *et al.*, 2009).

In Italia, la gestione dei parassiti nei prodotti dalla pesca è stata recepita con l'emanazione, nel novembre 2015 da parte della Conferenza Stato – Regioni, delle “Linee guida in materia di igiene dei prodotti della pesca” (Conferenza Stato - Regioni, 2015).

Tali linee guida si basano su due principi fondamentali:

- l'OSA non deve immettere sul mercato prodotti manifestamente infestati da parassiti;
- l'OSA che produce prodotti da destinare al consumo crudo o praticamente crudo deve adottare trattamenti efficaci all'inattivazione dei parassiti.

Il primo aspetto nasce dall'indicazione “manifestamente infestati da parassiti”, situazione capace di suscitare spontanee e legittime reazioni di disgusto da parte del consumatore. In questo caso, anche quando i parassiti non rappresentano un reale rischio di infestazione per l'uomo gli alimenti sono da considerarsi inadatti al consumo umano secondo quanto stabilito dall'articolo 14, comma 2, lettera b, del Regolamento (CE) 178/2002.

Ridurre al minimo queste evenienze è un principio che queste linee guida vogliono garantire e che l'OSA deve assicurare, a prescindere dalla specie di parassita e dal suo effettivo potere infestante per l'uomo.

5.1 Il Regolamento (CE) 2074/2005

Il Regolamento (CE) 2074/2005 (Commissione Europea, 2005) stabilisce che “i prodotti della pesca palesemente infestati da parassiti non vanno immessi sul mercato per il consumo umano”. Il controllo viene demandato agli Operatori del Settore Alimentare (OSA)

i quali, attraverso il controllo visivo, accertano la presenza o meno dei cosiddetti “parassiti visibili”.

Il “parassita visibile” è un parassita o un gruppo di parassiti che per dimensioni, colore o struttura è chiaramente identificabile nei tessuti dei pesci.

Il “controllo visivo” è rappresentato dall’esame non distruttivo di pesci o prodotti della pesca svolto senza l’ausilio di strumenti di ingrandimento ottico, in condizioni di buona illuminazione per l’occhio umano e, se necessario, anche mediante speratura.

Per “speratura” si intende l’osservazione controluce di pesci piatti o di filetti di pesce in una stanza buia.

Il controllo visivo deve essere effettuato su un numero rappresentativo di campioni. Spetta ai responsabili degli stabilimenti a terra e alle persone qualificate a bordo delle navi officina determinare, in funzione della natura dei prodotti della pesca, della loro origine geografica e del loro impiego l’entità e la frequenza dei controlli. Durante la produzione il controllo visivo del pesce eviscerato deve essere effettuato da persone qualificate sulla cavità addominale, i fegati e le gonadi destinati al consumo umano. In base al metodo di eviscerazione utilizzato, il controllo visivo deve essere eseguito:

- in modo continuativo, al momento dell’estrazione dei visceri e del lavaggio, su tutti i pesci (in caso di eviscerazione manuale);
- per campionamento, effettuato su un numero rappresentativo di unità, pari ad almeno dieci esemplari per partita (in caso di eviscerazione meccanica).

Il controllo visivo dei filetti o dei tranci di pesce dev’essere effettuato dagli operatori durante la preparazione successiva alla sfilettatura o all’affettatura. In caso le dimensioni dei filetti o le tecniche di sfilettatura non consentano un controllo individuale deve essere predisposto un piano di campionamento e tenuto a disposizione dell’Autorità Competente, a norma dell’allegato III sezione VIII, capitolo II, punto 4, del Regolamento (CE) 853/2004. Qualora sia tecnicamente necessaria, la speratura dei filetti dovrà essere inclusa nel piano di campionamento.

5.1.1 Piano di campionamento

Per controllare nei prodotti ittici la presenza di larve plerocercoidi di *Dibothriocephalus* spp. e far sì che non vengano messi in commercio pesci “palesamente infestati”, il campionamento deve avere una valenza statisticamente significativa. Di conseguenza, il numero di esemplari da esaminare dipenderà dall’entità numerica del lotto (Tabella 3).

NUMERO DI SOGGETTI CHE COSTITUISCONO IL LOTTO	NUMERO DI SOGGETTI DA SOTTOPORRE AD ESAME ISPETTIVO	
	sensibilità del 10%	sensibilità del 5%
10	tutti	tutti
20	16	19
30	19	26
40-45	21	31
46-50	22	35
51-60	23	38
61-70	24	40
71-80	24	42
81-90	25	43
91-100	25	45
101-120	26	47
121-140	26	48
141-160	27	49
161-180	27	50
181-200	27	51
201-250	27	53
251-350	28	54
351-450	28	55
451-600	28	56
601-1200	29	57
1201-4000	29	58
> 4000	29	

Tabella 3: Numero di esemplari da campionare in base alla dimensione del lotto ai fini di un campionamento statisticamente significativo (Malandra, 2017)

A tale scopo risulta fondamentale accertarsi dell’uniformità del lotto (stessa specie e stessa unità di pescata), che gli esemplari appartenenti al lotto siano di dimensioni uniformi e che il prelievo avvenga effettuato in maniera omogenea, distribuendo il prelievo degli esemplari in modo uniforme tra le casse di cui il lotto è costituito (Malandra, 2017).

Questo criterio si applica soprattutto quando i pesci sono di piccole dimensioni ed i lotti sono, di conseguenza, costituiti da migliaia di soggetti. In tal caso, si dovranno esaminare almeno 29 esemplari (soglia di sensibilità al 10%) o 58 esemplari (soglia di sensibilità al 5%). Al contrario, se soltanto 10 esemplari costituiscono un lotto, tutti i soggetti saranno sottoposti ad ispezione visiva (Tabella 3).

Nel caso l'esame, eseguito in autocontrollo, metta in evidenza i parassiti, l'operatore del settore alimentare deve ricorrere ai seguenti provvedimenti:

- Pesci di piccole dimensioni non tecnicamente eviscerabili:
 - Ritiro e avvio alla distruzione;oppure:
 - Eviscerazione differita alla vendita al dettaglio (nel caso le dimensioni lo consentano).
- Pesci di medie/grandi dimensioni:
 - Eviscerazione preventiva;
 - Eviscerazione differita al dettaglio (Malandra, 2017).

5.2 Bonifica sanitaria

Sulla scorta del parere EFSA del 2010, la Commissione Europea ha adottato il Regolamento (CE) 1276/2011 che, modificando l'allegato III, sezione VIII, capitolo III, parte D del Regolamento (CE) 853/2004 (Commissione Europea, 2004) sancisce quanto segue:

1. Gli operatori del settore alimentare che immettono sul mercato i seguenti prodotti della pesca derivati da pesci pinnati o molluschi cefalopodi:
 - a. i prodotti della pesca che vanno consumati crudi o praticamente crudi;oppure
 - b. i prodotti della pesca marinati, salati e qualunque altro prodotto della pesca trattato, se il trattamento praticato non garantisce l'uccisione del parassita vivo,devono assicurarsi che il materiale crudo o il prodotto finito siano sottoposti ad un trattamento di congelamento che uccide i parassiti vivi potenzialmente rischiosi per la salute dei consumatori.
2. Per i parassiti diversi dai trematodi il congelamento deve consistere in un abbassamento della temperatura in ogni parte della massa del prodotto fino ad almeno:
 - a. - 20 °C, per almeno 24 ore; oppure
 - b. - 35 °C, per almeno 15 ore.
3. Gli operatori del settore alimentare non sono tenuti a praticare i trattamenti di congelamento di cui al punto 1 per i prodotti della pesca:

- a. sottoposti, o destinati ad essere sottoposti, ad un trattamento termico che uccide il parassita vivo prima del consumo. Nel caso di parassiti diversi dai trematodi il prodotto è riscaldato ad una temperatura al centro del prodotto superiore o uguale a 60 °C per almeno un minuto;
- b. che sono stati conservati come prodotti della pesca congelati per un periodo di tempo sufficiente ad uccidere i parassiti vivi;
- c. derivanti da cattura in zone di pesca non di allevamento, a condizione che:
 - i. esistano dati epidemiologici indicanti che le zone di pesca d'origine non presentano rischi sanitari con riguardo alla presenza di parassiti;
e
 - ii. le autorità competenti lo autorizzano;
- d. derivati da piscicoltura, da colture di embrioni e nutriti esclusivamente secondo una dieta priva di parassiti vivi che rappresentano un rischio sanitario, e purché uno dei seguenti requisiti sia soddisfatto:
 - i. sono stati allevati esclusivamente in un ambiente privo di parassiti vivi;
oppure
 - ii. l'operatore del settore alimentare verifica mediante procedure approvate dall'autorità competente che i prodotti della pesca non rappresentano un rischio sanitario con riguardo alla presenza di parassiti vivi.

4.

- a. Al momento dell'immissione sul mercato, a meno che non siano forniti al consumatore finale, i prodotti della pesca di cui al punto 1 devono essere accompagnati da un'attestazione dell'operatore del settore alimentare che ha effettuato il trattamento di congelamento, indicante il tipo di congelamento al quale sono stati sottoposti.
- b. Prima dell'immissione sul mercato dei prodotti di cui al punto 3, lettere c) e d), che non sono stati sottoposti al trattamento di congelamento o che non sono destinati ad essere sottoposti ad un trattamento, prima del consumo, volto ad uccidere i parassiti vivi che rappresentano un rischio sanitario, un operatore del settore alimentare deve assicurarsi che i prodotti della pesca in questione provengano da una zona di pesca o piscicoltura conforme alle

condizioni specifiche di cui ai punti citati. La presente disposizione può essere ottemperata dalle informazioni presenti nel documento commerciale o da qualunque altra informazione che accompagna i prodotti della pesca.

6 Discussione

Nonostante in Europa gli *outbreak* epidemici dovuti al consumo di prodotti di origine animale siano in aumento rispetto al recente passato, spesso i casi di parassitosi dovuti al consumo di alimenti di origine animale eludono i report ufficiali (EFSA ed ECDC, 2023c).

Questo è in parte dovuto alla difficoltà nel generare un focolaio (due o più casi clinici di malattia in individui che hanno consumato lo stesso alimento), che è una caratteristica peculiare di questi patogeni, ed in parte alla mancata segnalazione dei casi clinici.

Nel caso di *Dibothriocephalus* spp. l'infestazione, nella maggior parte dei casi, è asintomatica o caratterizzata da sintomi di lieve gravità. Questo, unito al fatto che la prognosi è fausta, il trattamento terapeutico efficace e poco costoso, determina la mancata segnalazione alle Autorità competenti della maggior parte dei casi. Di conseguenza, la prevalenza dell'infestazione nell'uomo, seppur in aumento, è fortemente sottostimata (Scholz e Kuchta, 2016).

Inoltre, la diffusione in Occidente di abitudini alimentari “ a rischio”, ovvero associate al consumo di piatti esotici a base di pesce crudo, impone l'applicazione della bonifica sanitaria prevista dal Regolamento (CE) 853/2004 ai prodotti ittici che non sono risanati da un trattamento termico.

Chiaramente sono presenti dei limiti nell'applicabilità della bonifica sanitaria: non è infatti possibile per l'Autorità competente avere sotto controllo i canali di vendita esclusi dall'applicazione del Regolamento (CE) 843/2004, quali la cessione di “piccoli quantitativi” di prodotti ittici nelle zone oggetto di pesca o il pesce pescato e consumato privatamente. La pericolosità di questa “falla” nel controllo ufficiale è resa ancora più reale dal fatto che ben un terzo delle specie ospiti di *Dibothriocephalus* spp. (*Perca fluviatilis*, *Gymnocephalus cernua*, *Lota lota* ed *Esox lucius*) siano presenti sul territorio nazionale e siano oggetto di pesca sportiva e ricreativa.

Se alla presenza di specie potenzialmente pericolose, si aggiunge il mancato controllo sanitario e il fatto che in alcune zone nel Nord Italia (ad esempio nelle zone limitrofe al Lago d'Iseo) il sistema fognario non abbia ancora un'efficienza ottimale, di fatto, potenzialmente, si garantisce al parassita la possibilità di poter continuare il suo ciclo biologico in natura ed ampliare o intensificare la sua presenza nelle zone già di per sé contaminate (Gustinelli et al., 2016).

Al fine di valutare correttamente la prevalenza di infestazione nella popolazione italiana ed europea sarebbe necessario che ogni caso di botriocefalosi intestinale fosse riportato all'Autorità competente. Purtroppo, al momento attuale, la mancata comunicazione dei casi di parassitosi umana incide in senso negativo sulla percezione della prevalenza d'infestazione sia a livello istituzionale che della popolazione. Come dimostrato nello studio di Ikuno e collaboratori (2018) infatti, il cittadino medio non ha una reale percezione del rischio associato al consumo di pesce crudo e, pertanto, risulta maggiormente esposto a contrarre infestazioni.

Nonostante le criticità evidenziate bisogna ricordare che:

- Al momento, solamente una specie del genere *Dibothriocephalus* è presente in natura sul territorio italiano (*D. latus*) e che la sua presenza è limitata ai laghi dell'arco alpino e subalpino.
- I casi in Europa originati da *D. nihonkaiensis* sono tutti riconducibili a pesci infestati provenienti dall'estero e reperiti sul mercato, ma non sottoposti a bonifica sanitaria.
- L'infestazione da *D. dendriticus*, nonostante il parassita sia ampiamente presente in Europa, è estremamente rara e documentata principalmente in alcuni casi di autoinfestazione a scopo scientifico (Scholz e Kuchta, 2016) o in casi come quello riportato al capitolo 4.4.6 legati ad un viaggio all'estero.

L'Intesa Stato – Regioni del 2015 in materia di igiene dei prodotti della pesca, per quanto concerne la situazione giuridica in Italia, ricorda che l'articolo 5 della Legge 283/1962 prevede, alla lettera d, l'ipotesi contravvenzionale dell'operatore del settore alimentare (OSA) che impieghi nella preparazione di alimenti e bevande, venda, detenga per vendere, somministri ai propri dipendenti o comunque distribuisca per il consumo sostanze alimentari che siano, tra l'altro, invase da parassiti o comunque nocive (Legge n. 283/1962, 1962).

La giurisprudenza penale (Sez. VI, sen. n. 12459 del 24/12/1985), in merito a tale ipotesi di reato, in materia di esclusione delle responsabilità per l'inconfigurabilità dell'elemento soggettivo ha stabilito che: “al fine di escludere la responsabilità delle contravvenzioni per l'esistenza della buona fede è necessario che l'imputato provi di aver fatto quanto poteva per osservare la legge per cui nessun rimprovero può essergli mosso neppure per negligenza o imprudenza (*omissis*)”.

Il Regolamento (CE) 853/2004 all' allegato III, sezione VIII, capitolo V, lettera d, definisce gli obblighi in relazione alla presenza di parassiti nei prodotti della pesca, stabilendo che: “gli operatori del settore alimentare devono assicurare che i prodotti della pesca siano sottoposti ad un controllo visivo alla ricerca di endoparassiti visibili prima dell'immissione sul mercato. Gli operatori non devono immettere sul mercato per il consumo umano i prodotti della pesca manifestamente invasi da parassiti.

Alla luce di queste premesse, nell'ipotesi che l'OSA abbia agito in conformità alla legge nella verifica dell'assenza dei parassiti e della nocività del prodotto destinato al consumo umano, il soggetto può essere ritenuto non imputabile della contravvenzione prevista dall'articolo 5 della Legge 283/1962 e quindi dell'ipotesi di reato penale.

7 Conclusioni

Le infestazioni da *Dibothriocephalus* spp. rappresentano, al giorno d'oggi, eventi isolati, legati al consumo di piatti esotici a base di pesce crudo, di pesce crudo in piatti della tradizione o alla cottura errata di alcuni piatti a base di pesce. Spesso la capacità di riconoscere le specie ittiche potenzialmente a rischio non è sufficiente a proteggere il consumatore, in quanto in alcuni piatti (soprattutto della cucina orientale) la carne del pesce è ridotta in frammenti che non ne permettono l'identificazione. Tuttavia, le carni crude o poco cotte di pesci potenzialmente infestati da *Dibothriocephalus* spp. non sono utilizzate solamente nella preparazione di piatti esotici, ma anche in piatti della tradizione italiana, come il "carpaccio di Persico".

Alla luce delle caratteristiche biologiche del parassita, delle sue aree endemiche, delle particolarità della malattia, della costante espansione del mercato ittico mondiale e del fenomeno del "turismo culinario", i parassiti appartenenti al genere *Dibothriocephalus* vanno considerati un pericolo concreto per la salute pubblica nel territorio italiano ed europeo.

Nel nostro paese, il parassita è stato spesso evidenziato nel Pesce persico (*P. fluviatilis*) pescato in alcuni laghi alpini, come il lago di Iseo e il lago di Como, molto frequentati sia dalla popolazione italiana, sia da turisti stranieri. Anche in pesci pescati nei laghi alpini delle vicine Francia e Svizzera il parassita viene spesso messo in evidenza, a conferma della sua presenza nell'area.

Spetta all'OSA, responsabile della vendita dei prodotti della pesca e dei piatti con essi preparati, la tutela della salute del consumatore, in questo ovviamente seguito e, se necessario, sanzionato, dai veterinari ispettori del Sistema Sanitario Nazionale. Come noto, sulla base della Legge 283/1962, articolo 5, lettera d, la commercializzazione di prodotti della pesca infestati da parassiti è sanzionabile penalmente, tranne nei casi in cui l'OSA possa dimostrare all'Autorità Competente di aver messo in atto tutte le procedure necessarie a ridurre il pericolo "parassiti".

Nonostante l'impegno dell'OSA e dell'Autorità Competente per prevenire la diffusione della parassitosi da *Dibothriocephalus*, si ha spesso la certezza che il consumatore di prodotti ittici sia totalmente all'oscuro dei pericoli che possono nascondersi in certe preparazioni gastronomiche. Per questo motivo, l'educazione del consumatore dovrebbe essere posta

in primo piano, al fine di guidarlo nel compiere scelte sicure e “consapevoli”. Questo importante compito dovrebbe essere devoluto ai veterinari che operano nel settore ittico, per raggiungere l’obiettivo che caratterizza la loro professione, ovvero la protezione di ogni consumatore dai pericoli insiti nei prodotti della pesca.

8 Bibliografia

1. AlGabbani, Q., Thagfan, F., Al-Quraishy, S., Banaeem, M., Alsaleh, T., Alotaibi, M., e Abdel-Gaber, R. (2021). Morphological and molecular characterizations for the developmental stages of *Hysterothylacium* species infecting *Argyrops spinifer*. *Journal of King Saud University - Science*, 33(7). <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101590>
2. Ángeles-Hernández, J. C., Gómez-De Anda, F. R., Reyes-Rodríguez, N. E., Vega-Sánchez, V., García-Reyna, P. B., Campos-Montiel, R. G., Calderón-Apodaca, N. L., Salgado-Miranda, C., e Zepeda-Velázquez, A. P. (2020). Genera and Species of the Anisakidae Family and Their Geographical Distribution. *Animals* , 10(2374). <https://doi.org/10.3390/ani10122374>
3. Arcangeli, G., Baldrati, G., e Pirazzoli, P. (2003). Le malattie alimentari legate al consumo di prodotti della pesca. In *La trasformazione dei prodotti della pesca: tecnologia, controllo e igiene di lavorazione* (pp. 273–317).
4. Armignacco, O., Caterini, L., Marucci, G., Ferri, F., Bernardini, G., Natalini Raponi, G., Ludovisi, A., Bossù, T., Gomez Morales, M. A., e Pozio, E. (2008). Human Illnesses Caused by *Opisthorchis felinus* Flukes, Italy. *Emerging Infectious Diseases*, 14(12), 1902. <https://doi.org/10.3201/EID1412.080782>
5. Armignacco, O., Ferri, F., Gomez-Morales, M. A., Caterini, L., e Pozio, E. (2013). Cryptic and Asymptomatic *Opisthorchis felinus* Infections. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 88(2), 364. <https://doi.org/10.4269/AJTMH.2012.12-0280>
6. Ash, L., e Orihel, T. (2007). *Ash & Orihel's Atlas of Human Parasitology. 5th ed.* Chicago: ASCP Press;
7. Attwood, H. D., e Chou, S. T. (1978). The longevity of *Clonorchis sinensis*. *Pathology*, 10(2), 153–156. <https://doi.org/10.3109/00313027809063494>
8. Bianchini, S., Gustinelli, A., Caffara, M., Prearo, M., & Fioravanti, M. L. (2012). Aggiornamento sulla diffusione della plerocercosi da *Diphyllobothrium latum* in pesci lacustri dell'Italia settentrionale e rischi per il consumatore. *ITTIOPATOLOGIA*, 9(1–2), 19–32.

9. Brockelman, W. Y., Upatham, E. S., Viyanant, V., Ardsungnoen, S., e Chantanawat, R. (1986). Field studies on the transmission of the human liver fluke, *Opisthorchis viverrini*, in northeast thailand: population changes of the snail intermediate host. *International Journal for Parasitology*, 16(5), 545–552. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(86\)90091-3](https://doi.org/10.1016/0020-7519(86)90091-3)
10. Castiglione, D., Di Maggio, M., Guardone, L., Ricci, E., Tinacci, L., Guglielmone, G., Coltraro, M., Susini, F., e Armani, A. (2023). *Eustrongylides excisus* in fish species caught in the Massaciuccoli Lake (Northwest Tuscany, Italy): Implications for freshwater fish quality and public health. *Food Control*, 153, 109894. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2023.109894>
11. CDC. (2018). *Opisthorchis Life Cycle - CDC - Global Health, Division of Parasitic Diseases and Malaria*. <https://www.cdc.gov/dpdx/opisthorchiasis/index.html>
12. CDC. (2019a). *Anisakis Life Cycle - CDC - Global Health, Division of Parasitic Diseases and Malaria*. <https://www.cdc.gov/dpdx/anisakiasis/index.html>
13. CDC. (2019b). *Diphyllobothrium Life Cycle - CDC - Global Health, Division of Parasitic Diseases and Malaria*. <https://www.cdc.gov/dpdx/diphyllobothriasis/index.html>
14. Chervy, L. (2002). The terminology of larval cestodes or metacestodes. *Systematic Parasitology*, 52(1), 1–33. <https://doi.org/10.1023/A:1015086301717>
15. Choi, D., Lim, J. H., Lee, K. T., Lee, J. K., Choi, S. H., Heo, J. S., Choi, D. W., Jang, K. T., Lee, N. Y., Kim, S., e Hong, S. T. (2008). Gallstones and *Clonorchis sinensis* infection: a hospital-based case-control study in Korea. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 23(8 Pt 2). <https://doi.org/10.1111/J.1440-1746.2007.05242.X>
16. Choi, M. H., Park, S. K., Li, Z., Ji, Z., Yu, G., Feng, Z., Xu, L., Cho, S. Y., Rim, H. J., Lee, S. H., e Hong, S. T. (2010). Effect of Control Strategies on Prevalence, Incidence and Re-infection of Clonorchiasis in Endemic Areas of China. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 4(2), e601. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PNTD.0000601>
17. Cole, R. A. (1999). Eustrongylidosis. In M. Friend e J. C. Franson (Eds.), *Field Manual of Wildlife Diseases: General Field Procedures and Diseases of Birds*. (pp. 223–228). U.S. Department of the Interior Fish and Wildlife Service. https://pubs.usgs.gov/itr/1999/field_manual_of_wildlife_diseases.pdf

18. Commissione Europea. (2002). *Reg. (CE) n. 178/2002*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:02002R0178-20210327efrom=EN>
19. Commissione Europea. (2004). *Reg. (CE) n. 853/2004*. <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:139:0055:0205:it:PDF>
20. Commissione Europea. (2005). *Reg. (CE) n. 2074/2005*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32005R2074efrom=en>
21. Commissione Europea. (2011). *Reg. (CE) n. 1276/2011*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32011R1276efrom=IT>
22. Commissione Europea. (2022). *Facts and Figures on the Common Fisheries Policy*. <https://doi.org/10.2771/53042>
23. Conferenza Stato - Regioni. (2015). Linee guida in materia di igiene dei prodotti della pesca. *Atti 195/CSR*, 1–36. <https://www.trovanorme.salute.gov.it/norme/renderNormsanPdf?anno=0&codLeg=53675&parte=1%20&serie=>
24. Cuéllar, C., Pelayo, V., García-Hernández, P., Puente, P., e Rodero, M. (2009). Seroprevalence of anti-Gymnorhynchus gigas (Trypanorhyncha, Gymnorhynchidae) antibodies in a Spanish population. *The Journal of Parasitology*, 95(3), 778–780. <https://doi.org/10.1645/GE-1894.1>
25. de Marval, F., Gottstein, B., Weber, M., e Wicht, B. (2013a). Imported diphyllobothriasis in Switzerland: Molecular methods to define a clinical case of Diphyllobothrium infection as Diphyllobothrium dendriticum, August 2010. *Eurosurveillance*, 18(3), 20355. <https://doi.org/10.2807/ESE.18.03.20355-EN/CITE/REFWORKS>
26. de Marval, F., Gottstein, B., Weber, M., e Wicht, B. (2013b). Imported diphyllobothriasis in Switzerland: Molecular methods to define a clinical case of Diphyllobothrium infection as Diphyllobothrium dendriticum, August 2010. *Eurosurveillance*, 18(3), 20355. <https://doi.org/10.2807/ESE.18.03.20355-EN/CITE/REFWORKS>
27. de Sales-Ribeiro, C., Rivero, M. A., Fernández, A., García-álvarez, N., González, J. F., Quesada-canales, O., e Caballero, M. J. (2021). A study on the pathological effects

- of trypanorhyncha cestodes in dusky groupers *epinephelus marginatus* from the canary islands. *Animals*, 11(5). <https://doi.org/10.3390/ani11051471>
28. Della-Morte, D., Ambrosi, C., Chiereghin, F., Infante, M., Pastore, D., Pacifici, F., Scaramella, M., Gentile, L., Mulas, F., e Quintavelle, G. (2023). *Methods for inactivation of seafood Anisakis larvae and prevention of human anisakiasis: a mini-review.*
 29. Desvois, L., Gregory, A., Aancelle, T., e Dupuoy-Camet, J. (2001). Enquête sur l'incidence de la bothriocéphalose en Haute-Savoie (1993-2000). *Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire*, 45, 211–213.
 30. Dezfuli, B. S., Pironi, F., Simoni, E., Shinn, A. P., e Giari, L. (2007). Selected pathological, immunohistochemical and ultrastructural changes associated with an infection by *Diphyllobothrium dendriticum* (Nitzsch, 1824) (Cestoda) plerocercoids in *Coregonus lavaretus* (L.) (Coregonidae). *Journal of Fish Diseases*, 30(8), 471–482. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2761.2007.00833.X>
 31. Dick, T. A., Nelson, P., e Choudhury, A. (2001). *Diphyllobothriasis: Update on human cases, foci, patterns and sources of human infections and future considerations.* https://www.researchgate.net/publication/11330782_Diphyllobothriasis_Update_on_human_cases_foci_patterns_and_sources_of_human_infections_and_future_considerations
 32. Donoso-Scroppo, M., Raposo, L., Reyes, H., Godorecci, S., e Castillo, G. (1986). Megaloblastic anemia secondary to infection by *Diphyllobothrium latum*. *Revista Medica de Chile*, 114(12), 1171–1174. <https://europepmc.org/article/med/3602700>
 33. Dupouy-Camet, J., e Peduzzi, R. (2004). Current situation of human diphyllobothriasis in Europe. *Euro Surveillances : Bulletin Européen Sur Les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin*, 9(5), 31–35. <https://doi.org/10.2807/ESM.09.05.00467-EN/CITE/PLAINTEXT>
 34. Durrani, M. I., Basit, H., e Blazar, E. (2022). *Diphyllobothrium Latum.* *StatPearls.* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK540971/>
 35. Eberhard, M. L., e Ruiz-Tiben, E. (2014). Case Report: Cutaneous Emergence of Eustrongylides in Two Persons from South Sudan. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 90(2), 315. <https://doi.org/10.4269/AJTMH.13-0638>

36. EFSA. (2010). Scientific Opinion on risk assessment of parasites in fishery products. *EFSA Journal*, 8(4). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1543>
37. EFSA, e ECDC. (2023a). *Food vehicles - Foodborne Outbreaks*. <https://www.efsa.europa.eu/en/microstrategy/FBO-dashboard>
38. EFSA, e ECDC. (2023b). *Food vehicles and causative agents - Foodborne Outbreaks*. <https://www.efsa.europa.eu/en/microstrategy/FBO-dashboard>
39. EFSA, e ECDC. (2023c). The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, 21(12). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8442>
40. Eguchi, S. (1973). *Diphyllobothrium latum* (Linnaeus, 1758). *Proc. Med. Parasitol. Jpn.*, 5, 127–144. <https://cir.nii.ac.jp/crid/1573105974123491072>
41. FAO. (2003). *Major Fishing Areas for Statistical Purposes*. <https://www.fao.org/fishery/docs/maps/Default.htm>
42. FAO. (2023). *Main Water Areas*. <https://www.fao.org/cwp-on-fishery-statistics/handbook/general-concepts/main-water-areas>
43. Fazio, G. (2011). *I parassiti nei prodotti della pesca*. https://www.asl2.liguria.it/components/com_publiccompetitions/includes/download.php?id=9840:i-parassiti-nei-prodotti-della-pesca.pdf
44. *FishBase*. (2023). <https://fishbase.se>
45. Franceschini, R., Guardone, L., Armani, A., Ranucci, D., Roila, R., Valiani, A., Susini, F., e Branciarri, R. (2022). Five-years management of an emerging parasite risk (*Eustrongylides* sp., Nematoda) in a fishery supply chain located on Trasimeno Lake (Italy). *Food Control*, 136. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108858>
46. Freeman, M. A., Yokoyama, H., e Ogawa, K. (2004). A microsporidian parasite of the genus *Spraguea* in the nervous tissues of the Japanese anglerfish *Lophius litulon*. *Folia Parasitologica*, 51, 167–176.
47. Freeman, M. A., Yokoyama, H., Osada, A., Yoshida, T., Yamanobe, A., e Ogawa, K. (2011). *Spraguea* (Microsporida: Spraguidae) infections in the nervous system of the Japanese anglerfish, *Lophius litulon* (Jordan), with comments on transmission routes and host pathology. *Journal of Fish Diseases*, 34(6), 445–452. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2761.2011.01255.X>
48. Fuentes, M. V., Madrid, E., Meliá, L. V., Casañ, F., Sáez-Durán, S., Trelis, M., e Debenedetti, Á. L. (2022). Nematode Parasites of the European Pilchard, *Sardina*

- pilchardus (Walbaum, 1792): A Genuine Human Hazard? *Animals*, 12(15).
<https://doi.org/10.3390/ani12151877>
49. Garcia, L. S. (2007). Parasite Recovery: Culture Methods, Animal Inoculation, and Xenodiagnosis. *Diagnostic Medical Parasitology*, 910–935.
<https://doi.org/10.1128/9781555816018.CH32>
50. Giarratana, F., Muscolino, D., Beninati, C., Ziino, G., Giuffrida, A., Trapani, M., e Panebianco, A. (2022). *Gymnorhynchus gigas* in *Lepidopus caudatus* (Actinopterygii: Perciformes: Trichiuridae): prevalence and related effects on fish quality. *CZECH JOURNAL OF FOOD SCIENCES*, 32, 320–325.
<https://iris.unime.it/handle/11570/2862568>
51. Groll, E. (1980). Praziquantel for cestode infections in man. *Acta Tropica*.
<https://doi.org/10.5169/seals-312665>
52. Guardone, L., Ricci, E., Susini, F., Polsinelli, E., Guglielmone, G., e Armani, A. (2021). First detection of *Eustrongylides excisus* (Nematoda: Dioctophymatidae) in big-scale sand smelt (*Atherina boyeri*) from the lake Massaciuccoli (Northwest Tuscany, Italy): implications for public health and seafood quality. *Food Control*, 120, 107517.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2020.107517>
53. Gustinelli, A., Caffara, M., Fioravanti, M. L., Prearo, M., Bernardoni, E., Menconi, V., Cavazza, G., Righetti, M., e Quaglio, F. (2014). *A survey on cestodes in italian lacustrine fish*. <https://hdl.handle.net/11585/393253>
54. Gustinelli, A., Caffara, M., Tedesco, P., e Fioravanti, M. L. (2021). Negligible risk of zoonotic parasites in Italian aquaculture. *Proceedings of the 74th Convegno SISVET*, 392–392.
55. Gustinelli, A., Menconi, V., Prearo, M., Caffara, M., Righetti, M., Scanzio, T., Raglio, A., e Fioravanti, M. L. (2016). Prevalence of *Diphyllbothrium latum* (Cestoda: Diphyllbothriidae) plerocercoids in fish species from four Italian lakes and risk for the consumers. *International Journal of Food Microbiology*, 235, 109–112.
<https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2016.06.033>
56. Hase, R., Mito, H., Yano, Y., Morishima, Y., e Hasegawa, Y. (2023). Tapeworm (*Diphyllbothrium nihonkaiense*) detected by abdominal ultrasonography. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 27(3).
<https://doi.org/10.1016/J.BJID.2023.102773>

57. Honcharov, S. L., Soroka, N. M., Galat, M. V, Zhurenko, O. V, Dubovyi, A. I., e Dzhmil, V. I. (2022). Eustrongylides (Nematoda:Dioctophymatidae): epizootology and special characteristics of the development biology. *HELMINTHOLOGIA*, 59, 127–142. <https://doi.org/10.2478/helm20220013>
58. Hong, S. T., e Fang, Y. (2012). Clonorchis sinensis and clonorchiasis, an update. *Parasitology International*, 61(1), 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2011.06.007>
59. Ikuno, H., Akao, S., e Yamasaki, H. (2018). Epidemiology of Diphyllbothrium nihonkaiense Diphyllbothriasis, Japan, 2001-2016. *Emerging Infectious Diseases*, 24(8), 1428–1434. <https://doi.org/10.3201/EID2408.171454>
60. ISTAT. (2023). *RiValuta*. <https://rivaluta.istat.it/Rivaluta/>
61. Istituto Superiore di Sanità. (2004). *Workshop di aggiornamento su problematiche emergenti nel settore dei prodotti ittici*.
62. IUCN. (2001). *Lista rossa IUCN*. Lista Rossa IUCN. <https://www.iucn.it/>
63. IUCN. (2013a). *Esox lucius*. Lista Rossa IUCN. <https://www.iucn.it/scheda.php?id=111211582>
64. IUCN. (2013b). *Gymnocephalus cernua*. Lista Rossa IUCN. <https://www.iucn.it/scheda.php?id=-1855783762>
65. IUCN. (2013c). *Lota lota*. Lista Rossa IUCN. <https://www.iucn.it/scheda.php?id=117599902>
66. IUCN. (2013d). *Perca fluviatilis*. Lista Rossa IUCN. <https://www.iucn.it/scheda.php?id=934167082>
67. Jackson, Y., Pastore, R., Sudre, P., Loutan, L., e Chappuis, F. (2007). Diphyllbothrium latum outbreak from marinated raw perch, Lake Geneva, Switzerland. *Emerging Infectious Diseases*, 13(12), 1957–1958.
68. Jeffery, B., Barlow, T., Moizer, K., Paul, S., e Boyle, C. (2004). Amnesic shellfish poison. *Food and Chemical Toxicology*, 42(4), 545–557. <https://doi.org/10.1016/J.FCT.2003.11.010>
69. Kamiya, M., e Ooi, H. K. (1991). Current status of food-borne parasitic zoonoses in Japan. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.*, 48–53.
70. Kaschner, K., Kesner-Reyes, K., Garilao, C., Segschneider, J., Rius-Barile, J. Rees, T., e Froese, R. (2023). *AquaMaps*. <https://aquamaps.org>

71. Kitamoto, H., Inoue, S., Okamoto, K., e Inokuma, T. (2019). Scanning early catches the worm: abdominal ultrasound as a possible screening method for intestinal cestodes. *Lancet (London, England)*, 394(10205), 1264. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32132-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32132-4)
72. Kitaoka, H., Takamizawa, K., e Shimizu, N. (2020). Raw fish and diphyllbothriasis infection. *QJM: An International Journal of Medicine*, 113(9), 695–696. <https://doi.org/10.1093/QJMED/HCAA008>
73. Kottelat, M., e Freyhof, J. (2007). *Handbook of European freshwater fishes*. Kottelat, Cornol, Switzerland and Freyhof.
74. Kuhlow, F. (1955). Researches on the Development of the Broad Tapeworm (*Diphyllbothrium latum*). *Zeitschrift Fur Tropenmedizin Und Parasitologie*, 6(2), 213–225.
75. Le Bailly, M., e Bouchet, F. (2013). Diphyllbothrium in the past: Review and new records. *International Journal of Paleopathology*, 3(3), 182–187. <https://doi.org/10.1016/j.ijpp.2013.05.004>
76. Legge n. 283/1962. (1962). Gazzetta Ufficiale Della Repubblica Italiana n. 139. <https://www.epicentro.iss.it/ebp/pdf/legge30aprile1962.pdf>
77. Llarena-Reino, M., Abollo, E., e Pascual, S. (2017). Microsporidians xenomas of anglerfish from NE Atlantic waters. *Journal of Fish Diseases*, 40(11), 1587–1598. <https://doi.org/10.1111/JFD.12627>
78. Lopez, A. A., Dwilow, R., Bullard, J., e Mujawar, Q. (2021). A Case of Refractory Diphyllbothriasis in a Young Pediatric Patient. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, 10(2), 210–212. <https://doi.org/10.1093/JPIDS/PIAA001>
79. López Celia, V., Vázquez-López, C., Armas-Serra, C., e Rodríguez-Caabeiro, F. (2001). *Gymnorhynchus gigas*: taxonomy, morphology, biology and sanitary aspects. *Analecta Veterinaria*, 21(2), 38–49. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/11134>
80. Lun, Z. R., Gasser, R. B., Lai, D. H., Li, A. X., Zhu, X. Q., Yu, X. B., e Fang, Y. Y. (2005). Clonorchiasis: A key foodborne zoonosis in China. *Lancet Infectious Diseases*, 5(1), 31–41. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(04\)01252-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(04)01252-6)
81. Mackenzie, K., e Kalavati, C. (2014). Myxosporean parasites of marine fishes: their distribution in the world's oceans. *Parasitology*, 141, 1709–1717. <https://doi.org/10.1017/S0031182014001425>

82. Magath, T. B. (1937). Factors influencing the geographic distribution of *Diphyllbothrium latum*. In *Papers on helminthology* (pp. 366–379).
83. Malandra, R. M. (2017). *Rintracciabilità e rischi sanitari - Parassiti*. <https://legacy.ats-brescia.it/media/documenti/veterinaria/2017/prodotti%20ittici/rintracciabilita%20e%20rischi%20sanitari%20-%20PARTE%202.pdf>
84. Malandra, R. M. (2023). *Archivio privato*.
85. Marty, A. M. (2000). Diphyllbothriasis and sparganosis. In W. M. Meyers (Ed.), *Helminthiasis. Armed Forces Institute of Pathology* (Vol. 1, pp. 165–183).
86. Meloni, D., e Arca, C. (2015). *Controllo delle lesioni di interesse ispettivo da parassiti ittici non zoonosici nella Rana pescatrice orientale Lophius litulon*. https://www.researchgate.net/publication/280574598_Controllo_delle_lesioni_di_interesse_ispettivo_da_parassiti_ittici_non_zoonosici_nella_Rana_pescatrice_orientale_Lophius_litulon_Jordan_1902
87. Menconi, V., Lazzaro, E., Bertola, M., Guardone, L., Mazzucato, M., Prearo, M., Bilska-Zajac, E., Cortinovic, L., Manfrin, A., Arcangeli, G., e Angeloni, G. (2023a). The Occurrence of Freshwater Fish-Borne Zoonotic Helminths in Italy and Neighbouring Countries: A Systematic Review. *Animals*, 13(24). <https://doi.org/10.3390/ani13243793>
88. Menconi, V., Lazzaro, E., Bertola, M., Guardone, L., Mazzucato, M., Prearo, M., Bilska-Zajac, E., Cortinovic, L., Manfrin, A., Arcangeli, G., e Angeloni, G. (2023b). The Occurrence of Freshwater Fish-Borne Zoonotic Helminths in Italy and Neighbouring Countries: A Systematic Review. *Animals*, 13(24). <https://doi.org/10.3390/ani13243793>
89. Menconi, V., Pastorino, P., Momo, I., Mugetti, D., Bona, M. C., Levetti, S., Tomasoni, M., Pizzul, E., Ru, G., Dondo, A., e Prearo, M. (2020). Occurrence and spatial distribution of *dibothriocephalus latus* (Cestoda: Diphyllbothriidea) in lake iseo (northern Italy): An update. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(14), 1–9. <https://doi.org/10.3390/ijerph17145070>
90. Menconi, V., Riina, M. V., Pastorino, P., Mugetti, D., Canola, S., Pizzul, E., Bona, M. C., Dondo, A., Acutis, P. L., e Prearo, M. (2020). First Occurrence of *Eustrongylides* spp. (Nematoda: Dioctophymatidae) in a Subalpine Lake in Northwest Italy: New

- Data on Distribution and Host Range. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17. <https://doi.org/10.3390/ijerph17114171>
91. Menconi, V., Zoppi, S., Pastorino, P., Di Blasio, A., Tedeschi, R., Pizzul, E., Mugetti, D., Tomasoni, M., Dondo, A., e Prearo, M. (2021a). Relationship between the prevalence of *Dibothriocephalus latus* (Cestoda: Diphylobothriidea) and the load of *Escherichia coli*: New findings in a neglected fish-borne parasitic zoonosis. *Zoonoses and Public Health*, 68(8), 965–972. <https://doi.org/10.1111/ZPH.12891>
 92. Menconi, V., Zoppi, S., Pastorino, P., Di Blasio, A., Tedeschi, R., Pizzul, E., Mugetti, D., Tomasoni, M., Dondo, A., e Prearo, M. (2021b). Relationship between the prevalence of *Dibothriocephalus latus* (Cestoda: Diphylobothriidea) and the load of *Escherichia coli*: New findings in a neglected fish-borne parasitic zoonosis. *Zoonoses and Public Health*, 68(8), 965–972. <https://doi.org/10.1111/ZPH.12891>
 93. Miliotis, M. D., Bier, J. W., e Hong, S.-T. (2003). *International handbook of foodborne pathogens*. Marcel Dekker.
 94. Ministero della Salute. (2007). *Classificazione delle malattie, dei traumatismi, degli interventi chirurgici e delle procedure diagnostiche e terapeutiche - Versione italiana della ICD-9-CM “International Classification of Diseases ^ 9th revision ^ Clinical Modification.”*
 95. Ministero della Salute - Agenzia per la protezione dell’ambiente e per i servizi tecnici. (2006). *Diossine Furani e PCB*. APAT. https://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_821_allegato.pdf
 96. Ministero della Salute - Direzione Generale della Prevenzione Sanitaria. (2015). *Idrocarburi aromatici policiclici (IPA)*. www.salute.gov.it
 97. Morozińska-Gogol, J. (2019). *Anisakis* spp. as etiological agent of zoonotic disease and allergy in European region – an overview. In *Annals of parasitology* (Vol. 65, Issue 4, pp. 303–314). NLM (Medline). <https://doi.org/10.17420/ap6504.214>
 98. Mugetti, D., Colombino, E., Menconi, V., Garibaldi, F., Mignone, W., Gustinelli, A., Prearo, M., Guarda, F., e Capucchio, M. T. (2021). Unusual localization of *pennella* sp. In swordfish (*xiphias gladius*) hearts. *Animals*, 11(6). <https://doi.org/10.3390/ani11061757>

99. Muscolino, D., Giarratana, F., Giuffrida, A., e Panebianco, A. (2012). Inspective investigation on swordfish (*Xiphias gladius*) frozen slices of commerce: anatomical-histopatological findings. *Czech Journal of Food Sciences*, 30(3), 206–210.
100. Naoki, A., Minoru, Y., Fukumi, N.-U., e Kenji, O. (2009). Diphyllobotriasis associated with eating raw pacific salmon. *Emerging Infectious Diseases* , 15(6), 866–870. <https://doi.org/10.1007/s00436-006-0433-3>
101. Ohnishi, K., e Kato, Y. (2003). Single low-dose treatment with praziquantel for Diphyllbothrium nihonkaiense infections. *Internal Medicine (Tokyo, Japan)*, 42(1), 41–43. <https://doi.org/10.2169/INTERNALMEDICINE.42.41>
102. Ohnishi, K., e Murata, M. (1993). Single dose treatment with praziquantel for human Diphyllbothrium nihonkaiense infections. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 87(4), 482–483. [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(93\)90049-V](https://doi.org/10.1016/0035-9203(93)90049-V)
103. Orban, E., Cautadella, S., e Spagnolo, M. (2012). Qualità, igiene e sicurezza nella filiera ittica. In *Lo stato della pesca e dell’acquacultura nei mari italiani* (pp. 822–834). <https://www.politicheagricole.it/flex/cm/pages/ServeBLOB.php/L/IT/IDPagina/5164>
104. Pakharukova, M. Y., e Mordvinov, V. A. (2015). The liver fluke *Opisthorchis felinus*: Biology, epidemiology and carcinogenic potential. In *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* (Vol. 110, Issue 1, pp. 28–36). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/trstmh/trv085>
105. Paugam, A., e Yéra, H. (2021). A new French case of *Dibothriocephalus nihonkaiensis* (*Diphyllbothrium nihonkaiense*) Teniasis due to Pacific salmon consumption: An emerging and underdiagnosed parasitosis. *Infectious Diseases Now*, 51(6), 579–580. <https://doi.org/10.1016/J.IDNOW.2020.11.006>
106. Peduzzi, R., e Boucher-Rodoni, R. (2001). Resurgence of human bothriocephalosis (*Diphyllbothrium latum*) in the subalpine lake region. *Journal of Limnology*, 60(1), 41–44. <https://doi.org/10.4081/JLIMNOL.2001.41>
107. Pozio, E., Armignacco, O., Ferri, F., e Gomez Morales, M. A. (2013). *Opisthorchis felinus*, an emerging infection in Italy and its implication for the

- European Union. In *Acta Tropica* (Vol. 126, Issue 1, pp. 54–62).
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.01.005>
108. Radačovská, A., Bazsalovicsová, E., Costa, I. B., Orosová, M., Gustinelli, A., e Králová-Hromadová, I. (2019a). Occurrence of *Dibothriocephalus latus* in European perch from Alpine lakes, an important focus of diphyllbothriosis in Europe. *Revue Suisse de Zoologie*, 126(2), 219–225. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.3463453>
109. Radačovská, A., Bazsalovicsová, E., Costa, I. B., Orosová, M., Gustinelli, A., e Králová-Hromadová, I. (2019b). Occurrence of *Dibothriocephalus latus* in European perch from Alpine lakes, an important focus of diphyllbothriosis in Europe. *Revue Suisse de Zoologie*, 126(2), 219–225. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.3463453>
110. Radhakrishnan, S., Nair, N. B., e Balasubramanian, N. K. (1983). *Gymnorhynchus gigas* plerocercoid (Cestoda: Gymnorhynchidae) infection of the liver of *Diodon hystrix* (Pisces: Diodontidae). *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 13(2), 141–147.
111. *Regolamento di Polizia veterinaria.* (1954).
https://www.gazzettaufficiale.it/atto/serie_generale/caricaDettaglioAtto/originario?atto.dataPubblicazioneGazzetta=1954-06-24eatto.codiceRedazionale=054U0320eelenco30giorni=false
112. Reilly, D. F. (2020). The Things They Carry: Diphyllbothriasis at Sea, a Case Report. *Military Medicine*, 185(3–4), e510–e512.
<https://doi.org/10.1093/MILMED/USZ462>
113. Rim, H.-J. (2005). Clonorchiasis: an update. *Journal of Helminthology*, 79(3), 269–281. <https://doi.org/10.1079/JOH2005300>
114. Rusconi, A., Prati, P., Bragoni, R., Castelli, M., Postiglione, U., Rigamonti, S., Sasserà, D., e Olivieri, E. (2022). Occurrence of *Eustrongylides excisus* (Nematoda: Dioctophymatidae) in European Perch (*Perca fluviatilis*) and Great Cormorant (*Phalacrocorax carbo*) in Lake Annone, Northern Italy. <https://doi.org/10.1645/20-175>, 108(2), 209–216. <https://doi.org/10.1645/20-175>
115. Sakai, H., Kawai, T., Zhang, J., e Sato, H. (2019). New host records of three *Kudoa* spp. (*K. yasunagai*, *K. thalassomi*, and *K. igami*) with notable variation in the number of shell valves and polar capsules in spores. *Parasitology Research*, 118(1), 143–157. <https://doi.org/10.1007/S00436-018-6144-8>

116. Sánchez-Alonso, I., Carballeda-Sangiao, N., González-Muñoz, M., Arcos, S. C., Navas, A., e Careche, M. (2021). Thermal patterns of heat treated Anisakis L3-infected fishery products allow separation into low, intermediate and high risk groups of potential use in risk management. *Food Control*, 124. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107837>
117. Scholz, T., Garcia, H. H., Kuchta, R., e Wicht, B. (2009). Update on the human broad tapeworm (genus diphylobothrium), including clinical relevance. In *Clinical Microbiology Reviews* (Vol. 22, Issue 1, pp. 146–160). <https://doi.org/10.1128/CMR.00033-08>
118. Scholz, T., e Kuchta, R. (2016). Fish-borne, zoonotic cestodes (Diphylobothrium and relatives) in cold climates: A never-ending story of neglected and (re)-emergent parasites. *Food and Waterborne Parasitology*, 4, 23–38. <https://doi.org/10.1016/J.FAWPAR.2016.07.002>
119. Sharma, K., Wijarnpreecha, K., e Merrell, N. (2018). Diphylobothrium latum Mimicking Subacute Appendicitis. *Gastroenterology Research*, 11(3), 235. <https://doi.org/10.14740/GR989W>
120. Shimizu, H., Kawakatsu, H., Shimizu, T., Yamada, M., Tegoshi, T., Uchikawa, R., e Arizono, N. (2008). *Diphylobothriasis Nihonkaiense: Possibly Acquired in Switzerland from Imported Pacific Salmon*. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.47.1026>
121. Sithithaworn, P., e Haswell-Elkins, M. (2003). Epidemiology of Opisthorchis viverrini. *Acta Tropica*, 88(3), 187–194. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2003.02.001>
122. Sithithaworn, P., Yongvanit, P., Tesana, S., & Pairojkul, C. (2007). Liver Flukes. *Food-Borne Parasitic Zoonoses*, 3–52. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-0-387-71358-8_1
123. Sola D. (2012). Consumo di pesce crudo e anisakiasi - Consumption of raw fish and risk of anisakiasi. *Biblioteca Istituto Zooprofilattico Sperimentale Dell'Umbria e Delle Marche*, 70, 6–16. <https://spvet.it/arretrati/numero-70/documenti/001-spvet70-2012.pdf>

124. Terramocci, R., Pagani, L., Brunati, P., Gatti, S., Bernuzzi, A. M., e Scaglia, M. (2001). Reappearance of human diphyllbothriasis in a limited area of Lake Como, Italy. *Infection*, 29(2), 93–95. <https://doi.org/10.1007/S15010-001-0090-5>
125. Torres, P., Villalobos, L., e Woelfl, S. (2007). Experimental Infection of Copepods from Four Lakes in Southern Chile with *Diphyllbothrium latum* (Linnaeus, 1758) Coracidia. *Https://Doi.Org/10.1654/4210.1*, 74(1), 167–170. <https://doi.org/10.1654/4210.1>
126. Treccani. (2003a). *Celozoico*. Vocabolario Online. <https://www.treccani.it/vocabolario/celozoico/>
127. Treccani. (2003b). *Istozoico*. Vocabolario Online. <https://www.treccani.it/vocabolario/istozoico/>
128. Treccani. (2003c). *Parassita*. Vocabolario Online. <https://www.treccani.it/vocabolario/parassita/>
129. Vázquez-López, C., De Armas-Serra, C., Giménez-Pardo, C., e Rodríguez-Caabeiro, F. (1999). Proteolytic activity of the *Gymnorhynchus gigas* plerocercoid: purification and properties of a collagenase from the crude extract. *Parasitology Research*, 85(1), 64–70. <https://doi.org/10.1007/S004360050508>
130. Vidal-Moreso, A., Gómez-Serrano, M., Sulleiro, E., Zarzuela Bs, F., Soriano-Arandes, A., e Espiau, M. (2019). The parasite that came in from the cold. *Journal of Travel Medicine*, 1–3. <https://doi.org/10.1093/jtm/taz065>
131. von Bonsdorff, B. (1948). Pernicious anemia caused by *Diphyllbothrium latum*, in the light of recent investigations. *Blood*, 3(1), 91–102. <https://doi.org/10.1182/BLOOD.V3.1.91.91>
132. von Bonsdorff, B. (1977). *Diphyllbothriasis in man* (Academic Press, Ed.).
133. Vuylsteke, P., Bertrand, C., Verhoef, G. E. G., e Vandenberghe, P. (2004). Case of megaloblastic anemia caused by intestinal taeniasis. *Annals of Hematology*, 83(7), 487–488. <https://doi.org/10.1007/S00277-003-0839-2>
134. Waeschenbach, A., Brabec, J., Scholz, T., Littlewood, D. T. J., e Kuchta, R. (2017). The catholic taste of broad tapeworms – multiple routes to human infection. *International Journal for Parasitology*, 47(13), 831–843. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2017.06.004>

135. WHO. (2005). Control of foodborne trematode infections. *WHO Technical Report Series*, 849.
136. Wicht, B., Gustinelli, A., Fioravanti, M. L., Invernizzi, S., e Peduzzi, R. (2009a). Prevalence of the Broad Tapeworm *Diphyllobothrium latum* in Perch (*Perca fluviatilis*) and Analysis of Abiotic Factors Influencing Its Occurrence in Lake Lario (Como, Italy). In *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* (Vol. 29, Issue 58).
137. Wicht, B., Gustinelli, A., Fioravanti, M. L., Invernizzi, S., e Peduzzi, R. (2009b). Prevalence of the Broad Tapeworm *Diphyllobothrium latum* in Perch (*Perca fluviatilis*) and Analysis of Abiotic Factors Influencing Its Occurrence in Lake Lario (Como, Italy). In *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* (Vol. 29, Issue 58).
138. Wicht, B., Limoni, C., Peduzzi, R., e Petrini, O. (2009). *Diphyllobothrium latum* (Cestoda: Diphyllobothriidea) in perch (*Perca fluviatilis*) in three sub-alpine lakes: influence of biotic and abiotic factors on prevalence. *Journal of Limnology*, 68(2), 167–173. <https://doi.org/10.4081/JLIMNOL.2009.167>
139. Yera, H., Estran, C., Delaunay, P., Gari-Toussaint, M., Dupouy-Camet, J., e Marty, P. (2006). Putative *Diphyllobothrium nihonkaiense* acquired from a Pacific salmon (*Oncorhynchus keta*) eaten in France; genomic identification and case report. *Parasitology International*, 55(1), 45–49. <https://doi.org/10.1016/J.PARINT.2005.09.004>
140. Yoshida, M., Hasegawa, H., Takaoka, H., e Miyata, A. (1999). A case of *Diphyllobothrium nihonkaiense* infection successfully treated by oral administration of Gastrografin. *Parasitology International*, 48(2), 151–155. [https://doi.org/10.1016/S1383-5769\(99\)00011-2](https://doi.org/10.1016/S1383-5769(99)00011-2)