

Indice

1. Introduzione	3
2. Parassiti selezionati per lo studio	5
2.1 Anisakis simplex	5
2.1.1 Ciclo vitale	6
2.1.2 Epidemiologia e quadro clinico	9
2.1.3 Diagnosi, terapia e prognosi	11
2.1.4 Prevenzione	13
2.2 Pseudoterranova decipiens.....	15
2.2.1 Ciclo vitale	17
2.2.2 Epidemiologia e quadro clinico	19
2.2.3 Diagnosi, terapia e prognosi	20
2.2.4 Prevenzione	21
2.3 Diphyllbothrium latum.....	22
2.3.1 Ciclo vitale	23
2.3.2 Epidemiologia e quadro clinico	25
2.3.3 Diagnosi, terapia e prognosi	27
2.3.4 Prevenzione	30
2.4 Opisthorchis felinus.....	31
2.4.1 Ciclo vitale	32
2.4.2 Epidemiologia e quadro clinico	33
2.4.3 Diagnosi, terapia e prognosi	35
2.4.4 Prevenzione	36
3. Obiettivo della tesi	38
4. Materiali e metodi	39
4.1 Questionario.....	40

4.2 Campione studio.....	42
4.3 Risultati.....	42
4.3.1 Parte demografica.....	42
4.3.2 Parte specifica.....	46
5. Discussione	55
6. Conclusioni.....	58
7. Bibliografia e sitografia	60

1. Introduzione

Tra le parassitosi di origine alimentare che possono riguardare l'uomo, e che rientrano a pieno titolo nel concetto di zoonosi, ovvero di affezioni trasmesse dagli animali all'uomo, si annoverano le elmintiasi sostenute da nematodi, cestodi e trematodi ospitati in pesci, molluschi e crostacei. Tali infezioni vengono contratte dall'uomo a causa del consumo di prodotti della pesca e dell'acquacoltura, appunto pesci, molluschi e crostacei, infestati e crudi o poco cotti. Interventi adeguati su tali prodotti, tuttavia, impediscono che il parassita, qualora assunto, possa infettare il consumatore.

Un parassita è un organismo che vive a spese di un altro, detto ospite, tendenzialmente senza arrecargli un danno per cui non potrebbe più rappresentare l'habitat ideale. Infatti, se ad ogni stato di infezione corrispondesse un aggravarsi importante delle condizioni di salute dell'ospite, o addirittura la sua morte, il parassita metterebbe a rischio, contestualmente, la sua stessa esistenza. Nella rosa di parassiti che possono osservare come ospite l'uomo, sono presenti nematodi, cestodi e trematodi, come anticipato. Dal punto di vista tassonomico, questi sono classificati nella seguente maniera:

Regno Animalia

 Phylum Nematoda

 Classe Chromadorea

 Phylum Platyhelminthes

 Classe Cestoda

 Classe Trematoda

Nel presente lavoro di tesi, si prenderanno in considerazione i principali parassiti agenti di zoonosi alimentare da prodotti della pesca e dell'acquacoltura, ovvero le seguenti specie: *Anisakis simplex*, *Pseudoterranova decipiens*, *Diphyllobothrium latum* ed *Opisthorchis felinus*. Le prime due appartengono al

phylum dei nematodi (Nematoda), la terza e la quarta a quello dei plattelminti (Platyhelminthes). I nematodi sono i così detti “vermi tondi”, poiché il loro corpo è a sezione circolare, difatti etimologicamente il termine “nematode” significa “a forma di filo” (greco: νῆμα *nèma filo*, -εἶδής -eidès *forma*). I plattelminti, invece, sono vermi dal corpo appiattito in senso dorso-ventrale, come riconduce l’etimologia del termine (greco: πλατύς *platýs piatto*, ἕλμινς *hélmins piatto*).

La scelta di approfondire il tema delle parassitosi derivanti dal consumo di prodotti della pesca non adeguatamente trattati scaturisce dal recente incremento nel *trend* del consumo di alimenti tipicamente orientali nel mondo occidentale: fino a pochi anni fa, il consumo di pietanze di ispirazione asiatica era molto meno frequente nei ristoranti, ancor meno nelle abitazioni. Oggi, invece, grazie ad una rapida globalizzazione in termini di abitudini alimentari, è quasi consueta la presenza di attività di ristorazione che offrano nel menù pesce crudo o poco cotto, nonché la tendenza alla preparazione domestica di suddetti alimenti. Storicamente, nei Paesi occidentali, solo in alcune zone e limitatamente alcune ricette tipiche si era abituati al consumo di pesce crudo, marinato o poco cotto. Esempi ne sono il consumo di crudità di pesce nelle zone di mare, oppure la tipica ricetta olandese delle *Hollandse nieuwe*, a base di aringhe. L’interesse verso questo argomento, che si riflette ovviamente sulla salute umana in relazione alla sicurezza alimentare, è stato inoltre accresciuto da alcune esperienze effettuate durante l’espletamento del tirocinio universitario svolto presso l’AST Ancona, nel territorio di Senigallia, in particolare grazie ad una ispezione effettuata in un ristorante che serve sushi.

Volendo andare oltre il mero studio della letteratura in merito alle parassitosi sopracitate, si è condotta un’indagine statistica, al fine di comprendere il livello di consapevolezza dei consumatori in termini di sicurezza alimentare e in relazione alle loro abitudini alimentari.

2. Parassiti selezionati per lo studio

2.1 *Anisakis simplex*

Anisakis simplex è un nematode (Phylum Nematoda), appartenente alla Classe Chromadorea, Ordine Rhabditida, Famiglia Anisakidae, Genere *Anisakis*, specie *simplex*. Da diversi anni, tuttavia, si riconosce *Anisakis simplex* come un complesso, più che come singola specie, costituito dalle tre specie sorelle *Anisakis pegreffii*, *Anisakis simplex sensu stricto* e *Anisakis simplex C* (Abollo et al., 2003). Per semplificare, nel presente lavoro si utilizzerà il termine *Anisakis simplex* in riferimento alle tre specie costituenti suddetto complesso.

L'*Anisakis* possiede un corpo lungo 1-3 cm e dal diametro di pochi millimetri, a sezione circolare e di colore biancastro o tendente al rosato. Entrambe le estremità del corpo, una che ospita l'apparato buccale e l'altra il poro anale, sono assottigliate ed il corpo è rivestito da una cuticola incolore. La cuticola è secreta dal sottostante ipoderma, il quale appoggia su fasci muscolari intervallati a fibre nervose. Al di sotto dello strato muscolare, e delimitato da quest'ultimo, si rinvia lo pseudocele, la cavità che si estende per tutta la lunghezza del corpo e che ospita gli apparati digerente e riproduttore, maschile o femminile.

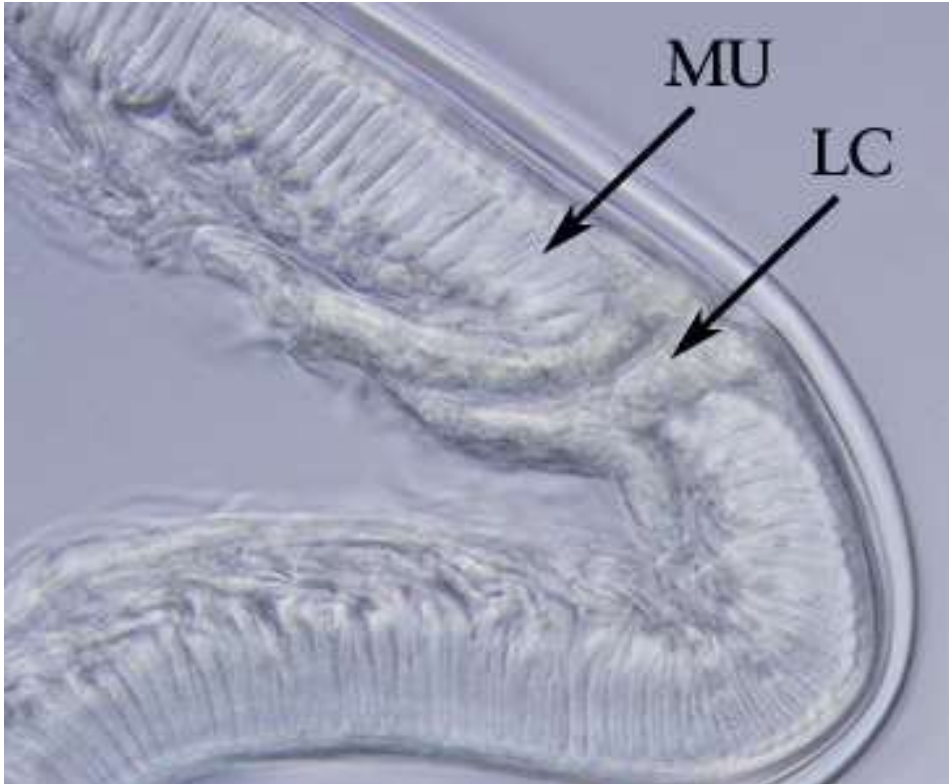


Figura 1 Ingrandimento maggiore del campione nella Figura C. Notare le cellule muscolari alte e prominenti (MU) e le corde laterali a forma di Y (LC). (Fonte cdc.gov)

2.1.1 Ciclo vitale

Il ciclo vitale dell'*Anisakis simplex* (fig 2) si svolge principalmente in ambiente acquatico, ma può allargarsi anche in quello extra-acquatico, inoltre coinvolge diversi attori, quali ospiti definitivi, intermedi, paratenici e occasionali. L'ospite definitivo, fondamentale per il perpetuarsi del ciclo vitale del parassita, è rappresentato dal mammifero marino, in particolare da varie specie di cetacei (ad esempio delfini, balene e narvali). L'ospite intermedio, altrettanto importante, corrisponde al crostaceo, principalmente il krill. La differenza sostanziale tra queste due tipologie di ospite è che nel definitivo il parassita si riproduce, mentre nell'intermedio no. L'ospite paratenico, invece, è quello che agisce da vettore

meccanico, ovvero all'interno del quale non si realizza alcuna fase di sviluppo del parassita, tantomeno la sua riproduzione, ma che consente il trasferimento dell'organismo da un individuo ospite all'altro. Ospiti paratenici per *Anisakis* sono pesci e cefalopodi. L'ultima categoria di ospite coinvolto è quella dell'ospite accidentale: non è forzatamente presente nel ciclo, ma può subentrare in esso o, meglio, prendere contatti con lo stesso, senza però consentire il suo proseguimento. Infatti, quando un ospite occasionale, e nel caso in questione si tratta dell'uomo, entra in contatto con il parassita e si infesta, lo ospita, ma senza consentirgli una riproduzione efficace o di essere trasmesso ad altre categorie di ospite (Guardone et al., 2018; website cdc.gov, 2024).

Come riportato in figura 2, il ciclo di *Anisakis simplex* inizia quando un ospite definitivo rilascia nell'ambiente marino, con le proprie feci, le uova del parassita. All'interno dell'uovo è presente il primo stadio larvale del parassita, denominato "L1", destinato a mutare prima a L2 (secondo stadio larvale) e poi ad L3 (terzo stadio larvale) (Audicana & Kennedy, 2008). A questo punto, l'uovo si schiude e la larva fuoriesce nell'ambiente acquatico, dove sarà ingerita dal primo ospite del ciclo: il krill. Quest'ultimo è un piccolo crostaceo che funge da ospite intermedio e che, quando ingerito a sua volta da pesci e cefalopodi, ovvero gli ospiti paratenici, consente la prosecuzione del ciclo di *Anisakis*. Nel caso in cui pesci e cefalopodi parassitati vengano predati da un mammifero marino, quest'ultimo si infesterebbe e consentirebbe la muta dell'elminta ad adulto, nonché la sua riproduzione. Tale evento corrisponde con la produzione delle uova che daranno nuovamente inizio al ciclo vitale del parassita, una volta liberate in acqua con le deiezioni del mammifero marino, che rappresenta dunque l'ultimo fondamentale tassello, ovvero l'ospite definitivo. Talora può verificarsi l'intromissione di un ospite accidentale all'interno del ciclo, ad esempio l'uomo: quest'ultimo diviene parassitato, ma non consente ad *Anisakis* di rientrare nel ciclo e di perpetuare la specie.

Anisakiasis

Anisakis, Pseudoterranova, Contracecum

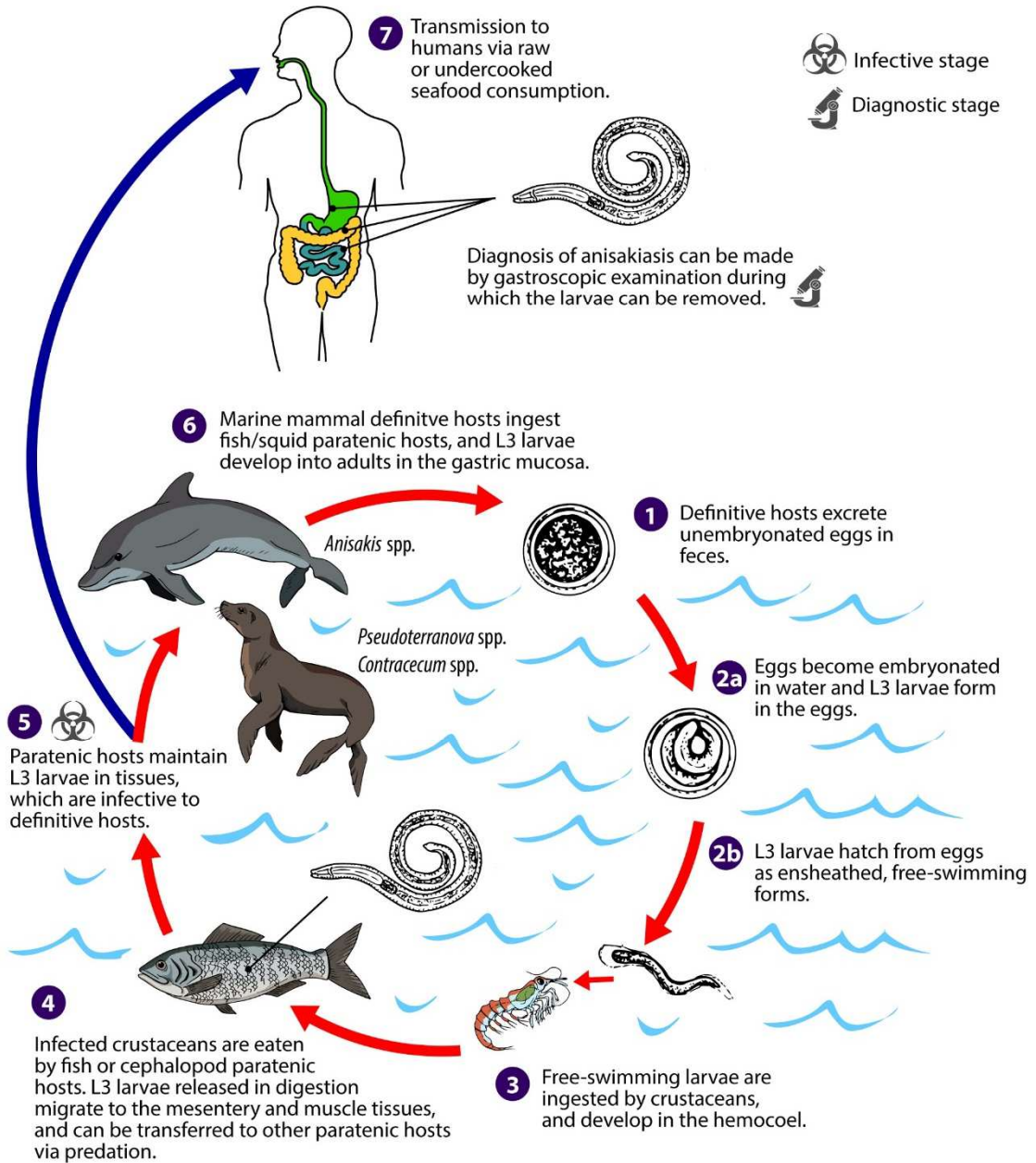


Figura 2. Ciclo di *Anisakis simplex* (fonte: cdc.gov).

2.1.2 Epidemiologia e quadro clinico

L'anisakiasi, descritta per la prima volta negli anni '60 nei Paesi Bassi (Audicana & Kennedy, 2008), è una malattia parassitaria diffusa praticamente in tutto il mondo, con una prevalenza variabile in relazione alla naturale presenza di parassita, ospite ed abitudini alimentari dei consumatori. Ogni anno vengono segnalati circa 20.000 casi di anisakiasi in tutto il mondo: oltre il 90% provengono dal Giappone e la maggior parte del restante 10% da Spagna, Paesi Bassi e Germania, tutti Paesi nei quali è tradizionale il consumo di pesce crudo (Hochberg & Hamer, 2010).

Nella maggior parte dei casi, l'infezione risulta autolimitante, poiché le larve non sono in grado di sopravvivere per lunghi periodi nell'uomo, quantomeno di replicarvisi. Tuttavia, l'European Food Safety Authority (EFSA) ha inserito l'*Anisakis simplex* tra i principali pericoli biologici da consumo di prodotti della pesca, in quanto la sua ingestione può comunque provocare gravi sintomi gastroenterici e/o quadri allergici (Geronès et al., 2023; EFSA Journal, 2010).

Le forme gastroenteriche sono quelle determinate dalla presenza del nematode a livello di stomaco e/o intestino. Volendo suddividere le due possibilità, ci si può riferire anche singolarmente ad un quadro gastrico oppure ad uno enterico. Nel primo caso, secondo Aibinu et al. (2019), si può notare una predilezione per la penetrazione di *Anisakis* nello spessore della grande curvatura dello stomaco, con la larva al terzo stadio che si incorpora nella parete dello stomaco. Il progressivo consumo della mucosa gastrica, da parte della larva, provoca edema della mucosa stessa, che causa al paziente forti dolori addominali all'epigastrio, nausea, vomito ed ulcere: tutti sintomi che appaiono circa 12 ore dopo l'ingestione del nematode. (Aibinu et al., 2019).

L'anisakiasi intestinale, invece, è dettata dalla presenza delle larve a livello della parete enterica, dove arrivano grazie alla peristalsi o per migrazione a partire dall'ambiente gastrico. La sintomatologia, in questo caso, è più spesso

caratterizzata da nausea, vomito e diarrea. L'insorgenza del quadro non è anche qui immediata, bensì appare progressivamente nei 5-7 giorni successivi all'ingestione delle larve. L'aspecificità di sintomi e segni clinici di questa patologia la rende facilmente confondibile con una enterite di varia natura, un'ostruzione intestinale, una condizione ulcerativa della mucosa gastrica o, peggio, enterica, appendicite acuta, diverticolite o colecistite. La presenza di un diagnostico differenziale così vario partecipa a rendere difficoltosa e non immediata la diagnosi di anisakiasi. Di conseguenza, anche l'impostazione della giusta terapia sarà tardiva, rendendo possibile la migrazione delle larve e l'invasione di altri organi. Circa due settimane post infezione, le larve possono già iniziare a migrare verso sedi come fegato, peritoneo, mesentere ed esofago, peggiorando il quadro clinico (Aibinu et al., 2019).

Come quadro a sé stante, ma ancora riferito all'apparato digerente, è anche riportato in letteratura (Hara et al., 2019) quello della *Sindrome da formicolio alla gola*, che si realizza quando le larve di *Anisakis* permangono a livello esofageo. I sintomi, che appaiono circa 48 ore dopo l'ingestione del nematode, includono prurito orale accompagnato da solletico e bruciori alla gola, la tosse è frequente, talvolta anche abbastanza forte da far espellere direttamente una larva viva o morta dalla bocca (Hochberg, 2010).

Esistono altre due forme cliniche, una da contatto, l'altra da ingestione di prodotti ittici infetti.

La prima causa un'allergia, si tratta di una reazione mediata da anticorpi, quali le immunoglobuline E (IgE), che reagiscono di fronte ad antigeni termostabili del parassita. Questo significa che suddetta forma può svilupparsi nel consumatore a prescindere dal tipo di trattamento termico operato sul prodotto della pesca, in quanto gli antigeni persistono nel prodotto nonostante la cottura o il congelamento. Nei soggetti sensibili agli antigeni del nematode, il consumo di pesce parassitato da *Anisakis simplex* può provocare reazioni allergiche anche

gravi, fino all'anafilassi, mettendo a repentaglio la vita del consumatore. Talune forme allergiche possono scatenarsi peraltro anche senza l'ingestione del prodotto della pesca infetto, ma esclusivamente tramite la sua manipolazione: queste sono scatenate dalle sostanze biochimiche che il parassita libera nell'apparato gastroenterico dell'ospite. La sintomatologia che accompagna tali reazioni è la seguente: rash cutaneo, orticaria, congiuntivite, lacrimazione, rinite ed attacchi di asma. Nei casi più gravi porta a shock anafilattico e morte.

La seconda causa una reazione gastroallergica, lo sviluppo di tale patologia è dovuto all' ingestione di pesce contenente tracce di allergeni As contenuti nei tessuti muscolari adiacenti alla zona contaminata dal parassita. Il vero pericolo di questa patologia è rappresentato dal fatto che gli allergeni dell'*Anisakis* se ingeriti possono indurre l'ospite a shock anafilattici e gravi attacchi d'asma anche se purificati tramite cicli termici corrispondenti all' abbattimento del pescato o alla cottura dello stesso prodotto. Quindi si ritiene opportuno che persone con precedenti reazioni di ipersensibilità associata ad *Anisakis simplex*, non consumino pesci con sospetta parassitosi da *Anisakis simplex* anche se trattati, visto che le larve rimangono in grado di produrre una reazione allergica anche se morte o addirittura frammentate (Audicana, 2022; Gomez et al., 2003).

2.1.3 Diagnosi, terapia e prognosi

La diagnosi di anisakiasi viene tendenzialmente effettuata grazie ad un racconto anamnestico che riporta il consumo da parte del paziente di prodotti a rischio, oltre che all'esecuzione di una gastroscopia. Quest'ultima assume un duplice ruolo, diagnostico e terapeutico: difatti, oltre a consentire la visualizzazione diretta del parassita, l'endoscopia permette anche la rimozione dello stesso, costituendo così parte della risoluzione. Inoltre, una valutazione del nematode rimosso, o, in alcuni casi, consegnato al personale sanitario direttamente dal paziente quando lo abbia eliminato autonomamente grazie ad accessi di tosse,

consente una diagnosi di certezza in relazione all'agente eziologico. L'identificazione di genere e specie del parassita viene effettuata nel Laboratorio di Riferimento per i Parassiti dell'Unione Europea (EURLP) dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS). Nello specifico, viene condotta una Multiplex PCR (Polymerase Chain Reaction), una tecnica che consente l'amplificazione di segmenti di materiale genetico del campione per la sua conseguente identificazione. Grazie a tale tecnica, è possibile distinguere larve del genere *Anisakis* da quelle appartenenti ad altri generi e, all'interno del genere stesso, individuare addirittura la specie.

L'approccio terapeutico prevede la rimozione fisica delle larve in sede di gastroscopia oppure mediante chirurgia, questo nel caso in cui le larve siano difficilmente eliminabili in endoscopia. In aggiunta, è efficace sottoporre il paziente ad una terapia antielmintica orale a base di albendazolo (400g due volte al giorno per 6-21 giorni). Questo agisce su differenti processi biochimici del parassita, impedendogli di produrre l'energia necessaria per le cellule e, quindi, portandolo a morte. Similmente, è stato provato un approccio farmacologico – sia in unione alla rimozione endoscopica del parassita che in assenza dell'endoscopia – con il mebendazolo, un altro antielmintico. Sembra che possa essere più efficace quando si somministrano 100 mg due volte al giorno per tre giorni (Chai et al., 2021; Moore et al., 2002).

In merito alla prognosi per l'infezione da anisakiasi, questa non è ben descritta scientificamente e non gode di una vasta e precisa letteratura scientifica, la maggior parte delle infezioni si risolvono autonomamente poiché le larve non sopravvivono per lunghi periodi nell'ospite umano, tuttavia il danno tissutale associato può causare sintomi più duraturi, è comunque clinicamente accertato che al momento della rimozione del parassita dell'ospite, questo migliora in tempi rapidi che si possono quantificare in 24-48 ore. Ovviamente più si allungano i tempi della diagnosi più i disturbi e le complicazioni potranno essere gravi e

durature nel tempo, potendo diventare croniche. Anche nelle persone che presentano già una patologia, e ingerendo un parassita di *Anisakis s.* vanno incontro ad una anafilassi, la pronta rimozione della larva equivale, unitamente alla somministrazione di un farmaco adatto alla patologia pregressa, al pronto ristabilimento del paziente. Ad esempio una donna di 61 anni che soffre di orticaria generalizzata, dopo aver ingerito dello sgombro crudo ha avuto una anafilassi, appena diagnosticata l'infezione da *Anisakis s.* è stato sufficiente somministrare della *epinefrina* ed estrarre tramite endoscopio la larva per osservare il rapido miglioramento del paziente. (Hoshino et al., 2011)

Un altro episodio che conferma quanto detto sopra sulla prognosi è quello che ha visto una donna di 35 che a seguito del forte dolore addominale, si è recata al pronto soccorso, e dopo aver controllato la sua anamnesi, che risultava essere praticamente insignificante per i sintomi accusati, venne sottoposta ad una TC dell'addome che evidenziò un ispessimento della parete gastrica. Diagnosticato, anche a seguito della dichiarazione della paziente di aver ingerito pesce crudo, un'infezione da *Anisakis simplex* fu rimosso endoscopicamente il parassita, operazione che alleviò rapidamente i sintomi del paziente (Fukita et al., 2013).

2.1.4 Prevenzione

Onde ridurre il rischio di infezione per il consumatore, il primo passo deve essere mosso dall'operatore del settore alimentare (OSA) che opera sui pescherecci. Allo scopo di bloccare la migrazione verso il muscolo di eventuali larve presenti nei visceri dei prodotti della pesca, è rilevante effettuare una rapida refrigerazione del pescato e, nel caso di navi officina e navi frigorifero, anche l'eviscerazione.

É importante specificare che sulle navi officina è possibile effettuare le operazioni che vanno dalla sfilettatura alla trasformazione vera e propria del pescato, fino al confezionamento ed imballaggio del prodotto. Le navi frigorifero sono invece imbarcazioni dove si può congelare il pesce solo a latere di alcune operazioni, ad

esempio il dissanguamento del pescato. Talora, anche in questo tipo di imbarcazioni si può confezionare ed imballare il prodotto. In altri natanti di diversa tipologia, ma comunque adibiti alla pesca, non è consentito effettuare operazioni diverse dalla refrigerazione (Reg CE 853/2004, Allegato III, sezione VIII, capitolo I, lettera C, D).

Oltre le succitate operazioni da effettuare a bordo delle specifiche imbarcazioni adibite alla pesca, gli OSA devono rispettare il Regolamento (CE) 852/04 che al capitolo V cita quanto segue “gli operatori del settore alimentare (OSA) devono assicurare che i prodotti della pesca siano sottoposti ad un controllo visivo alla ricerca di endoparassiti prima dell’immissione sul mercato. Gli operatori non devono immettere sul mercato prodotti manifestamente invasi da parassiti”. In applicazione anche della circolare 11 marzo 1992, n.10 del Ministero della Sanità. Un metodo valido per evitare la parassitosi e consumare il cibo crudo è quello del congelamento del prodotto a una temperatura di -18°C per 4 giorni, in un frigorifero A***, oppure altre due opzioni sono, come da Allegato del Regolamento (UE) n 1276/2011 dell’8 dicembre 2011, che modifica l’allegato III del Regolamento (CE) n 853/2004, il congelamento per più di 15 ore a -35°C, oppure a -20°C per almeno 24 ore.

Per quanto riguarda invece i punti vendita di prodotti ittici, il Ministero della Salute, con il D.M. del 17 Luglio 2013 ha fornito indicazioni sulle informazioni obbligatorie che questi devono rendere disponibili ai consumatori, tramite esposizione di apposito cartello, in posizione ben visibile, dove vengano riportate le informazioni per il corretto impiego di pesce e cefalopodi freschi nel caso in cui vengano consumati crudi, marinati o non completamente cotti.

Altro metodo applicabile solo da chi ha a disposizione pesce freschissimo è quello di eviscerare immediatamente il pesce in modo da evitare la possibile migrazione delle larve al muscolo, così facendo la parte che l’uomo consuma rimane in ogni caso meno rischiosa (Circolare 11/03/1992, n.10).

Un altro metodo per prevenire l'anisakidosi è quello della cottura del pesce o cefalopode a una temperatura superiore ai 60°C per almeno 20 minuti, o evitare di mangiare pesce crudo che non sia stato congelato per almeno 48 ore (Valss et al., 2003).

Sono invece inutili le procedure come conservazione in salamoia, salatura e affumicamento del prodotto.

2.2 *Pseudoterranova decipiens*

Lo *Pseudoterranova decipiens* è un nematode (Phylum Nematoda), appartenente alla Classe dei Chromadorea, Ordine Rhabditida, Famiglia Anisakidae, Genere *Pseudoterranova*, specie *decipiens*. Le larve di questo nematode sono, ovviamente, a sezione circolare, hanno una lunghezza di circa 10-12 mm ed uno spessore variabile tra 0,3-1,2 mm. La parete è organizzata in modo identico a quella dell'*Anisakis simplex*, ovvero è costituita esternamente da una cuticola, al di sotto della quale si trovano uno strato ipodermico ed, in ultimo, strato muscolare e fibre nervose. Tutti questi strati vanno a delimitare la cavità interna dello *Pseudoterranova*, ossia lo pseudocoele, che ospita principalmente gli apparati digerente e riproduttore (bisessuato). La peculiarità anatomica di questo nematode è l'estremità cefalica, costituita da un dente perforante e tre labbra (figura 3), l'esofago, un ventricolo estremamente più breve di quello delle *Anisakis simplex*, ed un intestino che presenta un cieco intestinale, cioè una sacca che collega l'intestino tenue a quello crasso. Ciò che distingue lo *Pseudoterranova decipiens* dall'*Anisakis simplex* è principalmente la dimensione delle labbra che nel primo sono molto più grandi e pronunciate rispetto al secondo.

Le caratteristiche anatomiche sono di notevole aiuto nel riconoscimento della specie, fattore importante nel percorso diagnostico in caso di anisakidosi.

Nel Genere *Pseudoterranova* sono incluse altre specie affini alla *decipiens* e che, tutte insieme, rientrano nella denominazione di *Pseudoterranova decipiens sensu lato*. Nel presente lavoro, per semplificare, si parlerà in generale di *Pseudoterranova decipiens*, riferendosi a sensu lato.



Figura 3. Il dente perforante (freccia) di *Pseudoterranova decipiens* (modificato da cdc.gov).

2.2.1 Ciclo vitale

Il ciclo vitale dello *Pseudoterranova decipiens* (fig.4) è molto complesso ed è ancora non completamente chiarito, di sicuro si sa che inizia attraverso uno stadio embrionali e quattro stadi larvali, nell'ordine: L1 (stadio uovo-larva), L2 (larva di secondo stadio), L3 (larva di terzo stadio) ed L4 (larva di quarto stadio, anche detto stadio pre-adulto). Al termine degli stadi larvali, si ha lo stadio adulto, in cui parassiti maschi e femmine si riproducono e le femmine emettono uova. Come inizio del ciclo vitale si individua il momento in cui gli adulti, appunto, espellono le uova all'interno del canale digerente dell'ospite definitivo, che, nel caso specifico, si identifica nel mammifero marino, come foche e leoni marini. All'interno di queste uova si svilupperanno, a partire da piccoli embrioni, uno per uovo, le larve L1. Una volta effettuata la prima mutazione, la larva fuoriesce dall'uovo ed è capace di sopravvivere in mare aperto per alcune settimane, prima di essere ingerita dall'ospite intermedio, ovvero un crostaceo, ad esempio anfipodi e misidi, come gamberi e pulci d'acqua. All'interno di quest'ospite e raggiunto l'intestino, la larva L2 si spoglia della cuticola, compiendo così la seconda muta e raggiungendo il terzo stadio larvale. I crostacei che contengono le L3, quando predati dagli ospiti paratenici (pesce angelo, piranha e pesce leone) consentono la prosecuzione del ciclo, infatti le larve, pur non subendo ulteriori mute, vanno a stanziare nello spessore e/o nella parete di vari visceri, ad esempio il mesentero, il fegato o le gonadi, e in questa maniera, con la predazione, vengono passate da ospite ad ospite. La fase finale di muta in larva adulta e sessualmente matura avviene invece all'interno dello stomaco degli ospiti definitivi, ovvero i pinnipedi, come foche, otarie e leoni marini. Qui lo *Pseudoterranova decipiens* si riproduce ed emette le uova, dando inizio ad un nuovo ciclo vitale.

Come già descritto per *Anisakis simplex*, nel caso in cui il pesce infetto (ospite paratenico), quali, merluzzo, aringhe, tonno e pesce spada, vengano usati per piatti quali il sushi/sashimi, le larve di stadio L3 darebbero origine ad un'infezione che provocherebbe danni all'apparato gastrointestinale i quali verranno più precisamente descritti nel successivo capitolo.

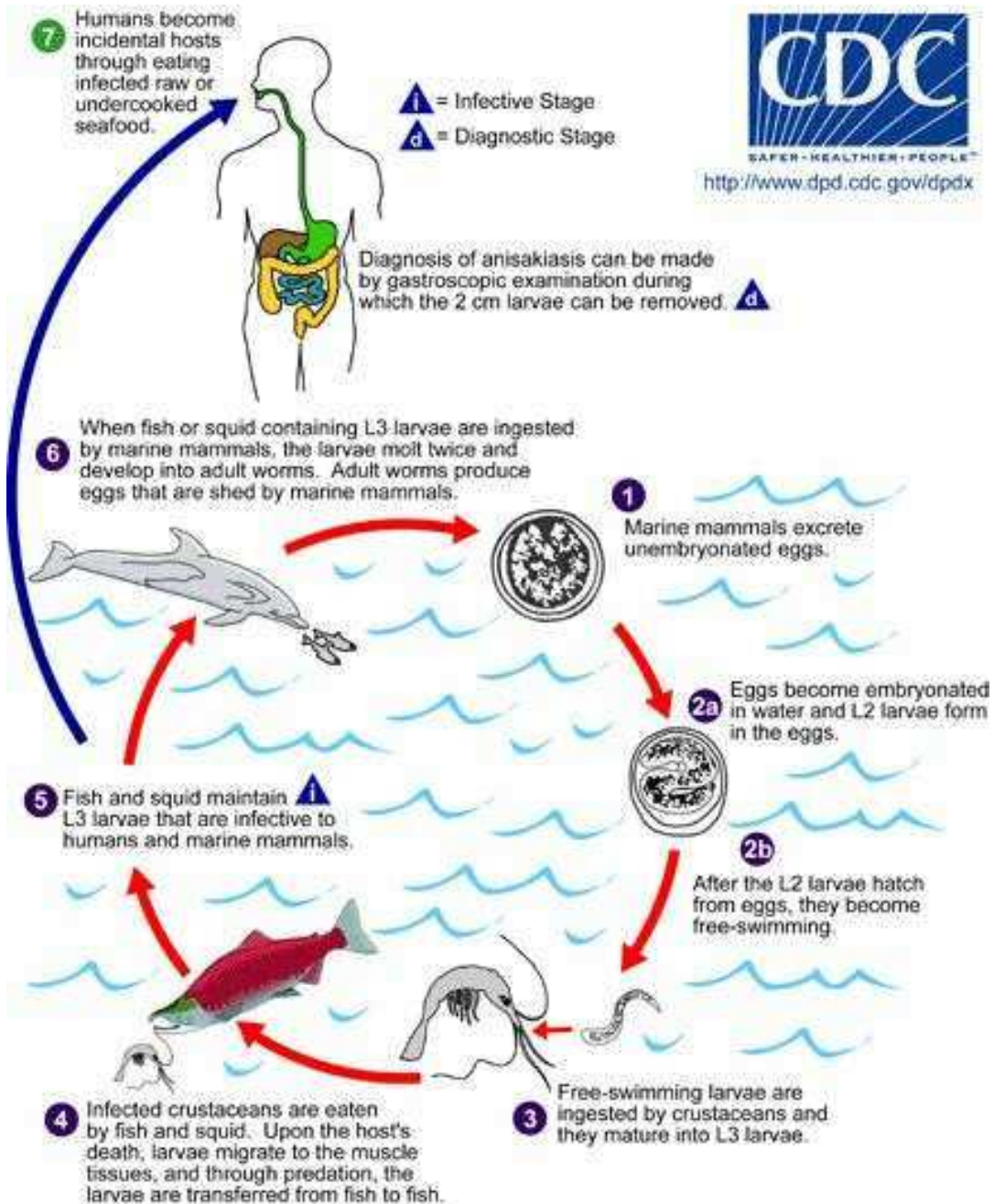


Figura 4 Ciclo vitale dello *pseudoterranova decipiens* (fonte:cdc.gov)

2.2.2 Epidemiologia e quadro clinico

Le larve di *Pseudoterranova decipiens*, quando ingerite dall'uomo in condizioni particolari, determinano l'insorgenza dell'anisakidosi, una zoonosi anche grave. L'infezione da tale parassita viene contratta tramite ingestione di prodotti della pesca crudi o poco cotti, allorché infestati dalle larve del nematode. L'uomo rappresenta un ospite accidentale, dato che il ciclo replicativo di *Pseudoterranova decipiens* non ne prevede la necessità per realizzarsi.

Il Paese più colpito è il Giappone, dato il consumo abituale e culturale di pesce crudo o poco cotto, sotto forma di tartare, sushi, sashimi e molti altri cibi tipici (Aibinu et al., 2019). Anche in Danimarca, Stato in cui il consumo di pesce crudo, come le aringhe marinate, è molto alto, è stata riscontrata una gran quantità di casi di zoonosi da parte dello *Pseudoterranova decipiens*, questo perché l'elminta sfrutta i grandi pinnipedi, come le foche, ed i delfini per propagare le proprie uova. Recentemente, le popolazioni di foche nelle acque danesi sono aumentate notevolmente, determinando un aumento di *Pseudoterranova decipiens* nei prodotti ittici locali e di conseguenza innalzando il numero di casi di anisakidosi (Nordholm et al., 2020).

Lo *Pseudoterranova decipiens* essendo un elminta facente parte della Famiglia *Anisakidae*, determina lo stesso tipo di patologie. Le larve di *Pseudoterranova decipiens* sono meno invasive di quelle dell'*Anisakis simplex*, infatti nella maggior parte dei casi riscontrati causano un'inflammazione gastrica acuta e non gastroenterica. Più di sovente, quando si realizza l'invasione dello stomaco si presenta una sintomatologia aspecifica che include distensione addominale, crampi allo stomaco, nausea, conati di vomito e fitte di dolore a livello lombare. Seppur in

casi più rari, lo *Pseudoterranova decipiens* è stato causa di granulomi epatici, confondibili con masse tumorali. Se le larve, dopo essere migrate nel fegato muoiono collassando in più pezzi, possono dare origine ai suddetti granulomi. (Murata et al., 2018)

Quando le larve di *Pseudoterranova decipiens* arrivano a colonizzare l'intestino dell'uomo, il quadro clinico è simile a quello appena descritto, con la possibilità di ostruzione intestinale, caratterizzata da segni quali stitichezza alternata a episodi di diarrea. In questo caso le larve raggiungono l'intestino seguendo il movimento peristaltico dall'apparato gastroenterico dell'ospite. (Aibinu et al., 2019).

La forma allergica non sembra essere frequente nel caso di *Pseudoterranova decipiens*, difatti quasi tutte le anisakidosi allergiche registrate sono scaturite da infezione con *Anisakis simplex*, tuttavia non si può escluderne la possibilità, soprattutto alla luce della dimostrazione della presenza di otto allergeni in comune tra *Anisakis simplex* e *Pseudoterranova decipiens* (Kochanowski et al., 2020; Ludovisi et al., 2017).

2.2.3 Diagnosi, terapia e prognosi.

La diagnosi di anisakidosi da *Pseudoterranova decipiens* è legata alla storia di consumo di prodotti della pesca crudi o poco cotti, spesso in tempi vicini all'apparizione dei sintomi (circa 24 ore). Il modo più immediato per la diagnosi di anisakidosi gastrica è l'endoscopia, con la quale si evidenzia la presenza di larve bianche a livello gastroesofageo. Le larve, come anticipato, sono di dimensioni apprezzabili ad occhio nudo, pertanto è possibile estrarle durante l'endoscopia, evitando interventi chirurgici (Koh et al., 1999).

Nei casi estremamente rari di infestazioni epatiche, con conseguente formazione di granulomi, il metodo diagnostico più opportuno è l'epatectomia parziale laparoscopica, cioè un piccolo intervento chirurgico mini-invasivo per rimuovere i granulomi contenenti i frammenti di larve, che saranno poi valutati tramite PCR, metodo già descritto nel precedente capitolo (Murata et al., 2018) e teso all'identificazione del parassita.

La terapia più funzionale, e che spesso corrisponde anche al metodo diagnostico, è la rimozione fisica delle larve tramite endoscopia o interventi chirurgici. Tuttavia, nella situazione in cui la parassitosi sia intestinale, si consiglia una terapia farmacologica che preveda l'assunzione di un farmaco antielmintico, in particolare l'albendazolo o il mebendazolo, rispettivamente per un tempo massimo di 21 e 3 giorni. Tali farmaci hanno la funzione di limitare la produzione energetica del parassita, così da poter favorire il distacco dalle superfici d'adesione e la conseguente espulsione della larva morta (Chai et al., 2021; Moore et al., 2002).

2.2.4 Prevenzione

Come intuibile, la migliore prevenzione contro l'anisakidosi da *Pseudoterranova decipiens* è quella di educare il consumatore ad un consumo conscio e responsabile dei prodotti della pesca. Un metodo che può usare il consumatore per evitare di essere infettato può essere quello di esaminare il pesce visivamente, così da appurare se questo presenti dei parassiti ed eventualmente non mangiarlo. Per quanto riguarda invece le dovute precauzioni a cui sono sottoposti gli esercizi che trattano o somministrano pesce crudo o non sufficientemente cotto, vi sono regolamenti europei quali il Reg. (CE) 852/2004 e (CE) 853/2004 che regolamentano sia la manipolazione che le modalità di

conservazione ed abbattimento del pesce. Entra più nel dettaglio la circolare n°10 del 1992 del Ministero della Salute che addirittura precisa il tempo e la temperatura alla quale un esercizio che somministra pesce crudo o sushi deve conservarlo per debellare l'anisakis. Si fa lì riferimento ad una temperatura inferiore a -20° per un periodo continuativo di minimo di 24 ore. In materia di distribuzione invece, questa deve rispettare le norme di cui al Reg. (CE) 853/2004 che all'Allegato III, Sez. VIII, Cap 3, lettera D, punto 3., intima che qualunque tipologia di prodotto ittico destinato al consumo crudo o quasi crudo deve essere sottoposto a trattamento di bonifica preventiva previa l'abbassamento della temperatura in ogni parte della massa dello stesso a temperatura di -20° per almeno 24 ore, o di -35° per almeno 15 ore. Addirittura il codice alimentare della Food and Drug Administration statunitense raccomanda regole ancora più drastiche, ma restano raccomandazioni, e cioè che il pesce destinato al consumo crudo venga congelato a -20°C (-4F) per 7 giorni o congelato a -35°C (-31F) per più di 15 ore.

2.3 *Diphyllobothrium latum*

Il *Diphyllobothrium latum* è un platelminto (Phylum *Platyhelminthes*), appartenente alla Classe dei Cestoda, Ordine Pseudophyllidea, Famiglia *Diphyllobothriidae*, Genere *Diphyllobothrium*, specie *latum*.

Il *Diphyllobothrium latum*, conosciuto anche come "tenia larga" o "tenia del pesce", è il più lungo parassita dell'uomo: può raggiungere una lunghezza anche di 10 m. È di colore biancastro, la sua forma è quella tipica dei platelminti, cioè un corpo piatto, allungato (nastriforme) e a simmetria bilaterale. Si possono riconoscere tre parti che costituiscono il corpo: lo scolice, il collo e la parte inferiore del corpo, formata da proglottidi e detta "strobilo". Lo scolice è la testa

del cestode, è priva di canali alimentari e ha una forma simile a quella di una mandorla. Essa è inoltre caratterizzata da due lunghi e stretti solchi che rendono possibile l'adesione alla parete intestinale dell'ospite: è proprio la forma di questa testa che ha ispirato il nome di *Diphyllobothrium latum*, il cui nome deriva dal greco: *δυσ*, doppio; *φυλλου*, foglia; *βωθριου*, fossetta; e dal latino: *latus*, largo. Il collo del cestode rappresenta una piccola parte della totalità del corpo e si trova situato tra lo scolice e l'origine delle proglottidi. Queste ultime sono dei segmenti molto ampi nel senso della larghezza e poco in quello della lunghezza, con dimensioni di circa 3 x 10 mm. Le proglottidi più distali sono anche le più mature e rappresentano i siti in cui sono contenuti gli organi riproduttivi, e cioè: ovaie, testicoli e pori uterini. Le ultime proglottidi sono quelle che producono e rilasciano le uova. Un esemplare di *Diphyllobothrium latum* può produrre 3000-4000 proglottidi, che a loro volta possono deporre un quantitativo di uova che può superare il milione in un solo giorno. Tali uova sono immature e destinate a schiudersi dopo uno stadio di sviluppo in acqua dolce. Appena espulse dal poro uterino le uova risultano essere ovoidali e di colore bruno giallastro, le dimensioni sono abbastanza variabili e sono comprese in un range di 30 – 70 µm. (SH Lee et al., 1989; cdc.gov)

2.3.1 Ciclo vitale

Il ciclo vitale (fig. 5) del *Diphyllobothrium latum* inizia con l'espulsione di uova non embrionate in flussi di acqua dolce, comprese le fogne, che defluiscono in bacini lacustri o fiumi, dove le uova in circa 20 giorni maturano e danno vita alle oncosfere (primo stadio larvale racchiuso in una capsula ovigera). Conseguentemente alla trasformazione, le oncosfere vengono divorate da piccoli crostacei, che rappresentano il sito perfetto per lo sviluppo di larve proceroidi (secondo stadio larvale). La forma infettiva del *Diphyllobothrium latum*

corrisponde al suo terzo stadio, ovvero il plerocercario, detto anche “spargano”. La metamorfosi da procercario a plerocercario avviene nei tessuti muscolari di pesci che ne predano altri dalle dimensioni minori e parassitati. L’ospite definitivo del cestode in questione è rappresentato dal predatore finale dei pesci infettati, ovvero l’uomo insieme ed i grandi mammiferi piscivori, come gli orsi. Il plerocercario, trovandosi nell’ambiente ottimale rappresentato dall’intestino tenue dei mammiferi, muta ad individuo adulto, cioè la tenia: quest’ultima aderirà in modo efficace alla mucosa intestinale grazie alla forza adesiva dettata dalle due bothrie (solchi bilaterali facenti parte dello scolice elmintico) sull’organo ospite. Già a due settimane dall’infestazione, la tenia depone le uova, presto espulse dall’ospite. Riparte così il ciclo vitale appena descritto (Guttowa et al., 2005; Andersen et al., 1978; cdc.gov).

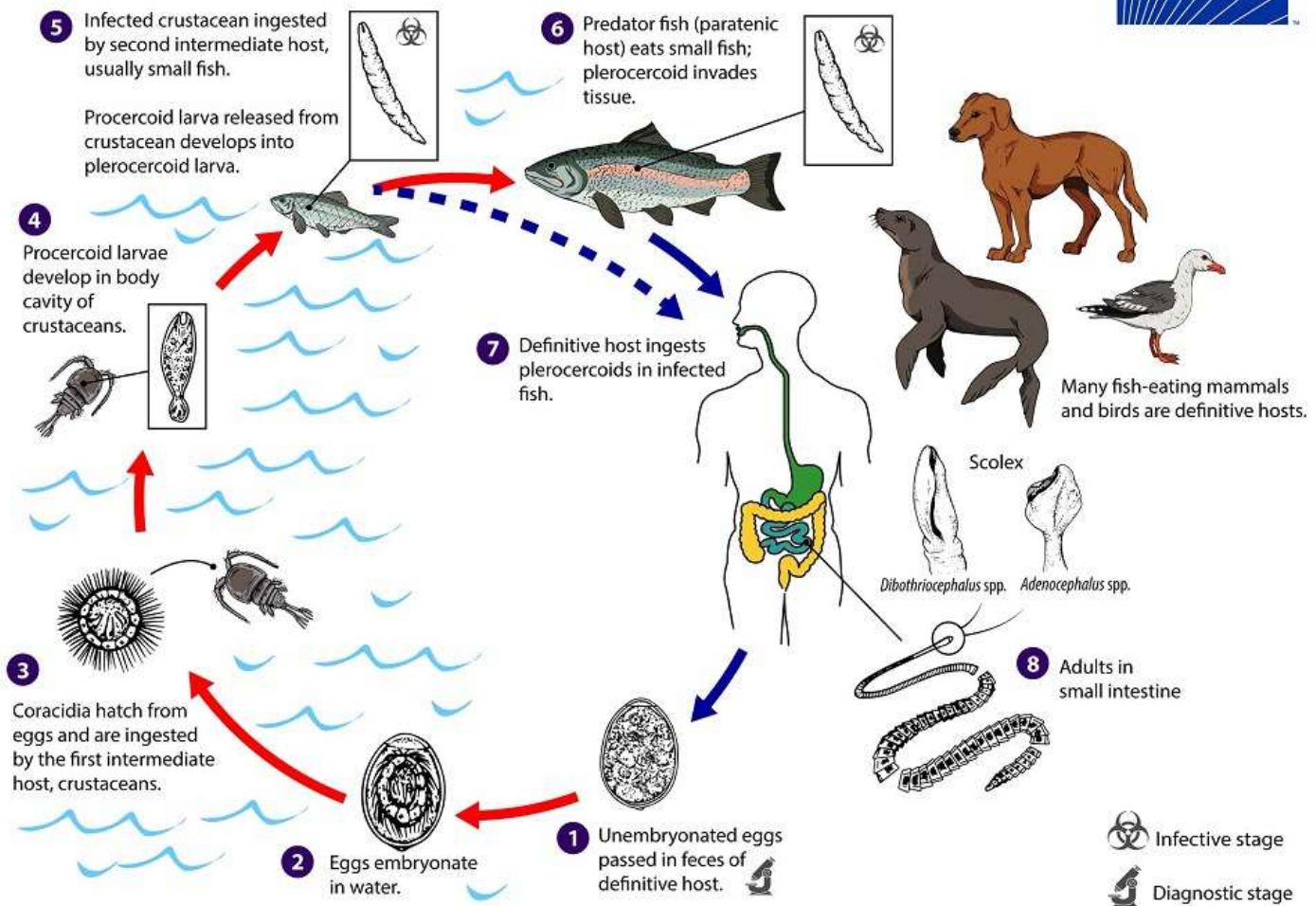


Figura 5 Ciclo vitale del *Diphyllobothrium latum* (fonte: cdc.gov)

2.3.2 Epidemiologia e quadro clinico

Diphyllobothrium latum è agente di una importante zoonosi a diffusione globale, la difillobottriasi, causata dall'ingestione di pesci di acqua dolce. Si stima che fino a 20 milioni di esseri umani siano stati infettati in tutto il mondo (Scholz et al., 2009). Normalmente i casi sono circoscritti nell'area giapponese, in Scandinavia, in Russia e in tutti quei luoghi dove il consumo di pesce lacustre o fluviale crudo o poco cotto è legato alle tradizioni nazionali o alle esigenze della popolazione (Scholz et al., 2009).

Negli ultimi anni, tuttavia, si sono registrati casi anche nel Nord Italia, in Francia, Svizzera e Olanda. Inoltre, se nello scorso secolo sembrava una patologia quasi scomparsa, data la crescita della popolazione mondiale e quella del commercio globale di pesce, il rischio di malattie di origine ittica e quindi anche della difillobotriasi negli esseri umani è in aumento (Ziarati et al.,2022). Pertanto, non solo si è ampliata l'estensione geografica della patologia, ma anche la sua incidenza.

Grazie allo studio di Gustinelli et al. (2016), si è potuto verificare come nei laghi italiani ci sia stata una diffusione dei plerocercoidi di *Diphyllobotrium latum*. Per lo studio sono stati selezionati 2228 pesci corrispondenti a 5 specie ittiche: luccio (*Esox lucius*), bottatrice (*Lota lota*), alosa (*Alosa fallax lacustris*), coregone (*Coregonus lavaretus*) e persico (*Perca fluviatilis*). I bacini selezionati per lo studio sono stati il Lago di Como, il Lago di Garda, il Lago Maggiore ed il Lago d'iseo, dai quali sono stati pescati rispettivamente 500, 383, 690 e 655 esemplari. Dai risultati si è riscontrato che la presenza di larve plerocercoidi di *Diphyllobotrium latum* è stata rilevata nel 6,6%, 7,6% e 25,4% dei persici rispettivamente dei Laghi Maggiore, Iseo e Como. Il cestode è risultato presente anche nel luccio, con valori di prevalenza variabili dal 71,4 all'84,2% e nel 3,6–3,8% nella bottatrice dei laghi d'Iseo e di Como. Il coregone e l'alosa provenienti dal Lago di Garda, differentemente dai precedenti, sono risultati negativi alla presenza del cestode. Il risultato di questa indagine ha quindi dimostrato che nel Lago Maggiore, nel Lago d' Iseo e nel Lago di Como sono presenti molti esemplari ittici infetti.

La difillobotriasi (anche detta botriocefalosi, in relazione alla più recente nomenclatura), si manifesta con sintomi e segni clinici comuni alle altre infestazioni parassitarie, quindi: nausea, vomito, stipsi alternata a diarrea, dolori addominali e, nei casi gravi, anemia (Konika et al, 2018). Nel 40% dei casi il paziente con infezione cronica, va in contro a una depauperazione della vitamina

B12 da fonte alimentare, dato che il parassita ne assorbe l'80% (Konika et al, 2018).

La pericolosità di questa patologia è dovuta alla sua sintomatologia aspecifica e talvolta silente per lunghissimi periodi, il che rende possibile la crescita della tenia, con conseguenti ostruzioni intestinali.

La tenia è in grado di infettare l'ospite per periodi lunghissimi, sottraendogli nutrienti senza che esso possa accorgersene: si stima che alcune tenie possano "accompagnare" l'uomo per 25 anni.

2.3.3 Diagnosi, terapia e prognosi

La diagnosi di difillobotriasi si basa sull'identificazione delle caratteristiche uova opercolate e brunastre o delle proglottidi nelle feci. I campioni fecali di persone infetti presentano secrezioni biancastre e filamenti del medesimo colore: all'esame microscopico, tali strutture si rivelano essere brevi segmenti di proglottidi gravide del parassita. La precisione e la rapidità della diagnosi dipendono strettamente dalla qualità del lavoro dei laboratori analisi e dei professionisti che si interfacciano con il paziente: proprio per una carenza in questi termini, nei Paesi in via di sviluppo (dove si ha una alta incidenza di difillobotriasi) si ha difficoltà nel diagnosticare e, di conseguenza, trattare efficacemente la condizione.

Grazie ad un lavoro di Alva et., al (2017) si è sviluppato un metodo diagnostico digitale, che riconosce le uova dei parassiti direttamente da campioni di strisci fecali. Lo studio è stato condotto in Perù, più precisamente presso l'Universidad Peruana Cayetano Heredia situata a Lima. L'ausilio del Dr. Robert Gilman come ricercatore principale è stato fondamentale per la classificazione corretta dei campioni utilizzati, conservati a 4°C in soluzione salina-formaldeide tamponata con fosfato al 5%. Il processo prevedeva prima una centrifugazione, utilizzata per

ottenere una sedimentazione rapida e conseguente concentrazione elevata delle uova nei campioni, in seguito, i 200 campioni fecali, si è proseguito con la colorazione con iodio di Lugol e l'acquisizione di immagini dei preparati analizzati. Ogni foto utilizzata conteneva un solo uovo di parassita e il set di dati con le identificazioni positive da parte degli specialisti ha rilevato la presenza di 1118 uova di parassiti elmintici, 185 delle quali erano appartenenti al *Diphyllobothrium latum*. Per la digitalizzazione delle immagini è stato utilizzato un microscopio ottico (DIALUX® Leitz Weitz) dotato di una fotocamera da 3,34 megapixel (Olympus C-3030) con la possibilità di digitalizzare gli strisci fecali con un ingrandimento di 40x. All' utilizzo del microscopio è stata accostata una sorgente luminosa alla massima intensità con diffusore e collimatore per evitare artefatti di luce puntiformi, e sono state catturate immagini con la fotocamera al massimo zoom ottico (3,34 megapixel), con autofocus ma senza flash.

L' algoritmo è stato poi sviluppato tramite piattaforma computazionale open source chiamata SCILAB, risultata estremamente utile per l'elaborazione e l'estrazione delle caratteristiche delle immagini. L'algoritmo elabora le immagini convertendole prima in scala di grigi, quindi applica un processo di filtraggio in quattordici fasi e produce delle immagini scheletrate e tricolori. Le caratteristiche estratte rientrano in due categorie generali: caratteristiche geometriche e descrizioni di luminosità. Le caratteristiche individuali sono state quantificate e valutate con una regressione logistica per modellare la loro capacità di identificare correttamente ciascun parassita separatamente. Il risultato principale ha mostrato che l'algoritmo ha raggiunto sensibilità tra il 99,10% e il 100% e specificità tra il 98,13% e il 98,38% per rilevare ciascun parassita separatamente e non è stata riscontrata alcuna positività incrociata negli algoritmi per i parassiti valutati. In conclusione si può affermare che tale algoritmo, data l'elevata sensibilità e specificità raggiunte, sia uno strumento affidabile per le diagnosi da *Diphyllobothrium latum*. (Alva et al., 2017)

Una terapia efficace per curare ospiti infetti da tenie di *Diphyllobothrium latum* è la somministrazione di una o più dosi (fino a tre volte al giorno) di praziquantel, farmaco antielmintico che agisce aumentando la permeabilità di membrana del parassita, provocandone la paralisi. Un esempio che conferma quanto appena detto è rappresentato da un referto medico risalente al 2005 in Brasile, nel quale si può verificare come una singola dose da 600 mg di praziquantel sia stata efficace per curare una donna di 29 anni affetta da difillobotriasi, che presentava un numero considerevole di uova opercolate nelle proprie feci (Santos et al., 2005). Alla somministrazione di compresse di praziquantel, in alcuni casi si accosta una cura a base di vitamina B12, per correggere l'anemia megaloblastica dovuta proprio alla carenza della vitamina stessa, sottratta dalla tenia. Altro farmaco utilizzato per trattare la difillobotriasi contiene la niclosamide, sostanza antiparassitaria che appartiene al gruppo dei medicinali antielmintici, anticestodi, derivati dell'acido salicilico. Questo risulta letale per la tenia adulta, ma non per le uova della tenia, infatti durante le espulsioni delle feci si può verificare la presenza di uova opercolate sane e frammenti di tenia, compresa la testa, talmente danneggiati che potrebbero risultare irriconoscibili. Nel caso in cui si desideri un'espulsione catalizzata del parassita, si prescrive un purgante salino, ad esempio solfato di magnesio o solfato di sodio. I purganti non aumentano l'efficienza del farmaco tuttavia tramite liquefazione delle feci velocizzano l'espulsione della tenia.

La prognosi dei pazienti affetti da difillobotriasi, nei paesi dove vi è un buon sistema sanitario, risulta più breve dal momento che la diagnosi è sufficientemente rapida, da scongiurare complicazioni spiacevoli. Nella maggior parte dei casi, il farmaco somministrato più frequentemente per curare casi di parassitosi da *Diphyllobothrium latum* è il praziquantel, grazie al quale non è mai stato registrato un fallimento terapeutico. L'assunzione di una singola dose del farmaco di 15mg/kg fa svanire in tempi brevissimi la sensazione di nausea, di

vomito e di altre sintomatologie aspecifiche legate ai dotti gastrointestinali, mentre le feci potrebbero presentare uova opercolate o segmenti di tenia per alcuni giorni dopo la guarigione. Per essere sicuri che il paziente sia guarito si consiglia di rianalizzare le feci anche dopo la scomparsa dei sintomi. (Lee et al., 2007).

Nei casi in cui la parassitosi risulta accompagnata da anemia megaloblastica o perniciosa, la ripresa del paziente potrebbe risultare meno veloce, in quanto l'assunzione di antielmintici non basta per eliminare la sintomatologia legata alla carenza di Vitamina B12. Il quadro clinico legato alla possibile anemia sparisce progressivamente in base al quantitativo di vitamina B12 che si assume tramite farmaci e alimentazione, ciò implica il fatto che debolezza, difficoltà deambulatoria e formicolio agli arti non costituiscano problemi per un lungo periodo. (Konika et al., 2018).

2.3.4 Prevenzione

La prevenzione per parassiti di acque dolci parte dalle bonifiche ambientali su: stagni, fiumi e laghi. La pulizia e la decontaminazione di tali ambienti serve per debellare molti dei piccoli ospiti intermedi del ciclo vitale del *Diphyllobothrium latum*, che, non trovando specie ittiche da parassitare, avrà più difficoltà a completare il suo ciclo vitale. Gli addetti alla lavorazione del pesce devono sempre proteggersi limitando la loro esposizione all'acqua quando presentano ferite aperte o abrasioni. I guanti monouso rappresentano ottimi DPI (Dispositivi di Protezione Individuale) per evitare che gli operatori vengano a contatto con le carni dei pesci e/o le acque contaminate. Quando il contatto con l'acqua è inevitabile, è possibile applicare sulla superficie delle ferite gel, colla tissutale o unguenti topici, tra cui il triplo antibiotico e la sulfadiazina argentea. Le ferite da penetrazione profonda devono essere lavate con acqua normale o acqua salina il prima possibile dopo che si è verificata la lesione e la ferita deve essere

adeguatamente disinfettata con agenti come perossido di idrogeno, alcool, betadine o clorexidina (Ziarati et al., 2022).

Nell'ambito della ristorazione è buona norma provvedere alla redazione di un sistema HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point), come prevede il D.lgs. 81/08 per ridurre i rischi da malattie zoonotiche. Tale importanza deriva dal fatto che durante la compilazione dello stesso, si evidenziano i possibili fattori di rischi e le eventuali criticità che potrebbero essere fonte di pericolo, avendo così la possibilità di apporre le dovute modifiche.

2.4 *Opisthorchis felineus*

L' *Opisthorchis felineus* è un parassita zoonotico appartenente al Phylum Platyhelminthes, Classe Trematoda, Ordine Opisthorchiida, Famiglia Opisthorchiidae, Genere *Opisthorchis*, specie *felineus*. La sua presenza è registrata in Europa e Asia (Pozio, et al. 2013). La larva dell' *Opisthorchis felineus* è trasparente, di dimensioni che si aggirano sui 7 x 1,5 mm, il suo aspetto è lanceolato e possiede una ventosa orale ed una ventrale. La denominazione "Distoma felineus", dovuta alla presenza di una duplice bocca, gli fu data in Italia e più precisamente a Pisa, dove venne descritto nei gatti. (Rivolta, 1884). Per quanto riguarda invece le infezioni nell'uomo, queste vennero descritte per la prima volta in Siberia, una regione dell'attuale Russia. Casi di opistorchiasi, così viene detta la specifica infezione con tale parassita, erano distribuiti prevalentemente nei Paesi dell'Europa dell'Est quali Bielorussia, Ucraina e Russia, ma più di recente si registrano anche nei Paesi centro-europei (Pozio et al., 2013). L' *Opisthorchis felineus* causa nell'uomo gravi condizioni dei dotti biliari e della cistifellea, tale patologia è detta opistorchiasi e l'infezioni epatica che ne

scaturisce è una dei principali fattori di rischio del colangiocarcinoma. (Fedorova et al., 2016).

2.4.1 Ciclo vitale

Il ciclo vitale (fig.6) ha inizio quando i trematodi adulti, che vivono nei dotti biliari e nei casi cronici anche in quelli pancreatici dell'ospite definitivo, vi depositano le uova che vengono rilasciate nell'ambiente quando l'ospite espelle le proprie feci. Le uova, già contenenti il miracidio (primo stadio larvale), vengono successivamente ingerite da una lumaca del Genere *Bithynia*, che vive in acque dolci (Schuster et al., 1999) e all'interno della quale si realizzano le successive mute agli stadi di sporocisti, redia e cercaria. La lumaca rappresenta pertanto il primo ospite intermedio. La cercaria, a questo punto, si allontana dalla lumaca e si libera in acqua, dove nuota finché non incontra il secondo ospite intermedio, ovvero un pesce d'acqua dolce, nella cui pelle si incista, talora approfondendosi fino alla muscolatura. In quasi tutti i bacini e corsi di acqua dolce italiani sono presenti due dei pesci che possono essere parassitati: il rutilo e la tinca, entrambi appartenenti alla Fam. *Cyprinidae*. Il ciclo si chiude quando l'ospite definitivo, solitamente un mammifero che si ciba di pesce (uomo incluso), si infetta, dando così il via al nuovo ciclo attraverso le proprie feci (De Liberato et al., 2010).

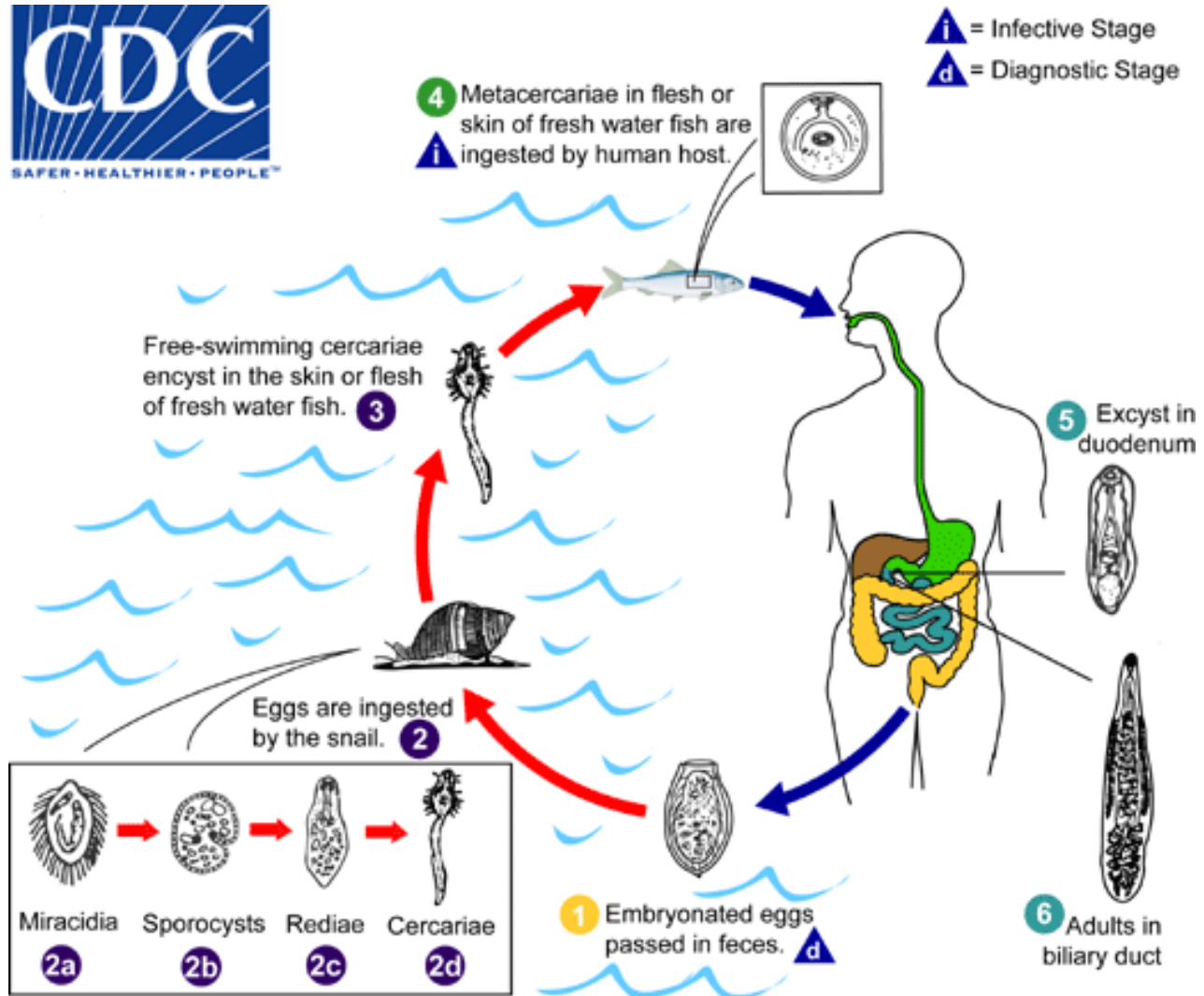


Figura 6 Ciclo vitale *Opisthorchis felineus* (fonte: cdc.gov.)

2.4.2 Epidemiologia e quadro clinico

Nell'ospite definitivo, l'*Opisthorchis felineus* è agente di opistorchiasi. La prima volta che si è proceduto alla ricerca sull'infezione da opistorchiasi nell'uomo è stata nel 1891 ed è stata eseguita dal Prof. Vinogradov dell'Università di Tomsk: trovandosi di fronte ad un parassita nel fegato dell'uomo mai descritto prima lo chiamò *Distomum sibiricum* Vinogradov, dopo tre anni il parassita venne descritto come *Opisthorchis felineus* e venne condotta su di esso un'indagine sistemica nella Serbia occidentale. Questa patologia, al giorno d'oggi, affligge più di 40

milioni di persone, buona parte di queste vivono in Ucraina, in Bielorussia, in Kazakistan e in Russia, soprattutto nella Siberia orientale, regione dove l'*Opisthorchis felineus* è endemico e dove è stato rilevato il più grande focolaio mai esistito. Questo, per la precisione, si è verificato nelle zone limitrofe al fiume siberiano Ob, dove vivono circa 15 milioni di persone (Yurlova, et al., 2016). Negli ultimi anni anche in Italia, a seguito del cambiamento delle abitudini alimentari, si stanno moltiplicando i casi, ad esempio nel periodo compreso tra il 2003 e il 2011 i casi registrati sono stati 211 (Pozio, et al. 2013). Per la precisione, nel 2007 ci fu un focolaio di ben 34 persone infette tra Umbria, Lazio e Toscana, per questo motivo si fece uno studio campionando le lumache del genere *Bithynia*, 12 specie di pesci stanziali nei laghi di Bolsena e Bracciano e feci di cinque presunte specie ospiti definitivi che vivono vicino ai due laghi. L'analisi identificò la presenza di DNA di *Opisthorchis felinus* nello 0.08% delle lumache, per quanto riguarda i pesci, la tinca (*Tinca tinca*), è l'unico ad essere stato trovato positivo all'infezione in entrambi i laghi, con una prevalenza dell'88,5%. Per quanto riguarda i mammiferi presi in considerazione dallo studio, uova di *Opisthorchis felineus* sono state trovate nel gatto (prevalenza dello 46,5%) (De Liberato, et al., 2011). Per quanto riguarda i quadri clinici, questi possono essere asintomatici oppure sintomatici, acuti o cronici. Più comune è la forma acuta di opistorchiasi, con segni quali il dolore addominale, la febbre, l'astenia, la nausea, il vomito e la diarrea. Negli stati cronici i sintomi diventano più importanti, si hanno ad esempio colangite, ascessi epatici, pancreatite acuta (in caso di colonizzazione pancreatico) e peritonite biliare (Porzio, et al., 2013). I sintomi compaiono più o meno dai 10 ai 26 giorni dopo l'esposizione al parassita (Xia et al., 2015). L'infezione, che è stata inserita nel gruppo delle malattie tropicali trascurate (NTD) acronimo di Malattie Tropicali Dimenticate o Neglette, provoca danni al fegato e al dotto biliare, determinando l'insorgenza di stati infiammatori cronici e altre complicazioni, alcune talmente gravi da portare finanche alla morte. Si è

infatti notato che l'opistorchiasi, provocando cambiamenti patologici nel sistema epatobiliare, aumenta il rischio di colangiocarcinoma, una neoplasia maligna delle vie biliari (Khan & Dageforde, 2019).

Gli effetti negativi per la salute sono causati principalmente dalla risposta immunitaria posta in essere dal parassita quando viene attaccato dal sistema immunitario del malato: ciò provoca un aumento del livello di specie reattive dell'ossigeno e delle specie reattive dell'azoto. Il rilascio di tali sostanze da parte delle cellule infiammate non fa altro che aumentare lo stress ossidativo nel fegato infetto con conseguente inizio e progressione della fibrosi epatica. (Perina et al., 2019).

2.4.3 Diagnosi terapia e prognosi

L'infezione da *Opisthorchis* si può diagnosticare attraverso la presenza delle uova del parassita nelle feci dell'ospite. Un limite di questo tipo di diagnosi è che può risultare poco efficace in quanto la dimensione delle uova è minima e molto spesso il loro numero è limitato. Inoltre, la conformazione morfologica delle uova può trarre in inganno l'esaminatore, che potrebbe confonderle con uova di trematodi filogeneticamente affini, o addirittura potrebbe non accorgersi affatto della loro presenza. Per poter ovviare a questi tipi di errori, si può usare il metodo molecolare e più precisamente quello basato sulla PCR, similmente a quanto già descritto per altri parassiti.

Per la diagnostica da infezione da opisthorchiasi è stato utilizzato anche un altro strumento diagnostico che è il test ELISA (Enzyme-Linked Immuno Assay) test che rileva degli antigeni specifici e consente il rilevamento del parassita.

(Tabatabaei & Ahmed, 2022).

Per quanto riguarda la terapia, la molecola più usata è il Praziquantel, la cui posologia prevede l'assunzione di 25 mg/kg per via orale, tre volte al giorno per due giorni. A causa di possibili effetti avversi come gonfiore agli occhi, lingua o

gola, difficoltà nel respirare, oppressione al petto e diarrea con sangue, si stanno cercando altri tipi di farmaci. Ottimi risultati per ora sta dando lo studio di un curcuminoide ricavato dalla radice della *Curcuma longa* (Lvova, et al., 2023). Purtroppo la curcumina ha una scarsa solubilità, quindi per ovviare a ciò è stato preparato un complesso micellare della stessa mediante il sale disodico dell'acido glicirrizico. Lo studio svolto con questo preparato sui criceti infetti, ai quali è stato somministrato un dosaggio di 50mg/kg per 30 giorni, ha evidenziato che l'effetto è stato più debole di quello avuto mediante la somministrazione di una singola somministrazione di Praziquantel a 400mg/kg, ma è altrettanto vero che questo trattamento ha un effetto antielmintico ed è in grado di poter ridurre sia il tasso di infiltrazione infiammatoria che quello della fibrosi periduttale (Lvova, et al., 2023). Altri farmaci usati per curare l'*ospitorchiasi* sono l'albendazolo e il mebendazolo, entrambi benzimidazolici ad ampio spettro, quindi efficaci nei trattamenti delle infezioni parassitarie. Tali farmaci, oltre ad avere effetti ovicidi, larvicidi e vermicide, bloccano i sistemi di microtuboli dei parassiti e delle cellule inibendo l'assorbimento e il trasporto del glucosio. Solitamente l'uso di questi farmaci è innocuo e comporta pochi effetti collaterali, tuttavia si possono verificare casi di tossicità epatica se assunti per periodi prolungati (>14-28 giorni), in rari casi questo si verifica anche se assunti una sola volta. (Chai, et al., 2021). Risulta facilmente evincibile che, la prognosi dell'*opistorchiasi* è subordinata al tipo di patologia causata e alla gravità della stessa e potrà andare dai 2-3 giorni, nei casi meno gravi, fino a diversi mesi in quelli più gravi.

2.4.4 Prevenzione

Per quanto riguarda più direttamente la prevenzione dell'infezione da *Opisthorchiasis felinum*, i pesci di acqua dolce della famiglia dei Ciprinidi, nei quali è stata rilevata la presenza del parassita, prima di essere consumati dovrebbero essere sottoposti a cottura fino a quando la temperatura interna degli stessi

raggiunge i 65°C, mantenendo questa temperatura per almeno un minuto. Altro metodo di prevenzione è il congelamento: questo risulta efficace se avviene alla temperatura di -20 gradi per almeno 7 giorni o se viene abbattuto previa congelamento a -28 °C per 20 ore, a -35 °C per 8 ore o a -40 °C per almeno 2 ore. (Fattakhov, 1989). Si tenga conto che il pesce affumicato o preparato in salamoia può contenere larve capaci di infettare. Per far sì che questa patologia non si diffonda maggiormente è necessario che le popolazioni abitanti le zone endemiche del parassita vengano rese edotte dei pericoli che si corrono ingerendo pesce crudo o poco cotto, inoltre molto importante sarebbe educare gli operatori addetti alla pesca e alla lavorazione del pescato, infatti la preparazione, la conservazione del prodotto ittico e soprattutto il trattamento dello stesso durante l'eliminazione delle feci e delle interiora, senza le dovute modalità potrebbero essere fonte di contagio sia per il consumatore che per l'operatore. Dato che il parassita infetta i mammiferi che si alimentano con pesce e che questi sono parte attiva del loro ciclo vitale, si dovrebbe impedire l'immissione dei liquami e delle feci degli animali nei laghi e negli stagni. Ovviamente qualsiasi importazione di pesce proveniente da Paesi endemici per il parassita comporta un maggior rischio e richiede maggior attenzione in un accurato controllo dei prodotti ittici importati. Per prevenire la diffusione dell'infezione da *Opisthorchis felineus*, si dovrebbe come prima cosa lavorare su attività che rendano più facili, rapidi e sicuri i test diagnostici, inoltre grande importanza avrà lo studio delle terapie e dei farmaci fin qui utilizzati, cercando di aumentare le competenze scientifiche e tecnologiche atte a comprendere l'interazione tra ospite e parassita in termini di immunopatogenesi. (Ogorodova, et al., 2015).

3 Obiettivo della tesi

Durante questi primi tre anni del percorso universitario, sono venute a conoscenza di svariate malattie, soprattutto professionali, tra queste quelle che mi hanno colpito maggiormente sono quelle zoonotiche, legate al consumo dei prodotti della pesca crudi o poco cotti. Tra le molteplici parassitosi sono state prese in esame le principali e cioè: l'anisakidosi, la difillobotriasi e l'opistorchiasi, in quanto patologie che negli ultimi anni stanno aumentando per via del consumo di pesce crudo o poco cotto come sushi e sashimi che va sempre più di moda.

L'obiettivo dell'elaborato di tesi è indagare, attraverso la somministrazione di un questionario alla popolazione, principalmente marchigiana, quali siano le conoscenze, le esperienze personali e le opinioni in merito al consumo di prodotti della pesca crudi o poco cotti, nonché di valutare il loro livello di consapevolezza riguardo i parassiti elmintici del pesce.

4 Materiali e metodi

Per la stesura della prima parte dell'elaborato di tesi è stata effettuata una revisione narrativa della letteratura attraverso la ricerca bibliografica sulla banca dati PubMed. Sono state utilizzate parole chiave come: "helminths", "fish parasites", "anisakiasis", "flatworms", "*Anisakis simplex*", "*Pseudoterranova decipiens*", "*Opisthorchis felineus*", "*Diphyllobothrium latum*", "prevention", "epidemiology", "clinical picture".

Sono inoltre stati consultati i siti internet dell'OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità), CDC (Centers for Disease Control and Prevention), ISS (Istituto Superiore di Sanità), il TESTO UNICO SULLA SALUTE E SICUREZZA SUL LAVORO D.lgs 9 aprile 2008, n.81, Regolamenti (CE) 852 e 853/2004 e la circolare n°10 del 1992 del Ministero della Salute.

Per la parte sperimentale, è stato elaborato *ex novo* un questionario che consentisse di comprendere la composizione del campione di studio, più che altro in termini di età e livello-tipologia di istruzione ricevuta, nonché il livello di conoscenza relativo alle zoonosi causate dal consumo di prodotti della pesca crudi o poco cotti. Il questionario era composto da un totale di 21 domande, delle quali 8 mirate a delineare il campione in termini di età, provenienza, istruzione ricevuta ed occupazione, le restanti 13 domande erano invece inerenti le abitudini alimentari in merito ai prodotti della pesca e il livello di conoscenza delle zoonosi oggetto di studio. Il tipo di risposta prevista era chiusa, con un minimo di 1 e un massimo di 7 risposte selezionabili, oppure aperta e richiedente un breve riscontro.

Il questionario è stato caricato sull'applicazione "Google Moduli" di Google e, tramite relativo link, condiviso sui social media affinché potesse essere fruibile al maggior numero possibile di persone, in tempi rapidi. Il link è risultato attivo nel periodo di Marzo del 2024 ed ha portato alla compilazione di 151 questionari.

4.1 Questionario

Il questionario era suddiviso in due parti, una prima mirata ad individuare la composizione del campione oggetto di studio, si trattava pertanto di un'indagine demografica (necessaria poi per una migliore interpretazione dei risultati), la seconda era più specifica per le zoonosi oggetto dello studio.

Il questionario era così strutturato:

Questionario	
1. In quale fascia di età rientra?	7. Qual è la sua condizione attuale?
<ul style="list-style-type: none">• <=14• 15-19• 20-25• 26-30• 31-40• 41-50• >61	<ul style="list-style-type: none">• Studente• Lavoratore• Studente-lavoratore• Disoccupato• Altro
2. In quale Paese vive?	8. Se lavora, è occupato in uno dei seguenti settori?
<ul style="list-style-type: none">• Italia• Estero	<ul style="list-style-type: none">• Sanitario• Alimentare• Educazione in ambito sanitario/alimentare• Nessuno dei precedenti
3. Se proviene da un altro paese, quale?	9. Quanto spesso consuma prodotti della pesca poco cotti?
<ul style="list-style-type: none">• Eventuale precisazione	<ul style="list-style-type: none">• Mai• Meno di una volta al mese• Due volte al mese• Una o più volte a settimana
4. Se vive in Italia, in quale regione vive?	10. Quanto spesso consuma prodotti della pesca crudi?
<ul style="list-style-type: none">• Eventuale precisazione	<ul style="list-style-type: none">• Mai• Meno di una volta al mese• Due volte al mese• Una o più volte a settimana
5. Quale è il livello più alto di istruzione che ha ricevuto?	11. Se consuma prodotti della pesca crudi o poco cotti:
<ul style="list-style-type: none">• Scuola primaria• Scuola secondaria di primo grado (scuola media)• Scuola secondaria di secondo grado (scuola superiore)• Laurea triennale/magistrale	<ul style="list-style-type: none">• li acquisto già pronti in negozio/ristorante• li preparo in casa acquistando il prodotto crudo
6. Tra le seguenti discipline, quali ha incontrato nel suo percorso di studi?	
<ul style="list-style-type: none">• Biologia• Igiene degli alimenti• Sicurezza alimentare• Parassitologia• Ispezione degli alimenti• Nessuno dei precedenti	

12. Se prepara in casa piatti a base di prodotti della pesca crudi o poco cotti:

- conservo il pescato in frigo
- conservo il pescato in congelatore non facendo caso alla temperatura né alla durata del congelamento
- tratto il pescato a -18 gradi per almeno 96 ore, in un frigo A***

13. Pensa che il consumo dei prodotti della pesca poco cotti possa essere rischioso per la salute?

- Sì
- No
- Forse

14. Pensa che il consumo dei prodotti della pesca crudi possa essere rischioso per la salute?

- Sì
- No
- Forse

15. Quali pensa che possano essere i principali rischi connessi all'assunzione di prodotti della pesca crudi o poco cotti?

- Pericoli biologici (parassiti, batteri, virus)
- Pericoli chimici (metalli pesanti, microplastiche)
- Residui delle industrie
- Nessuno

16. Ritieni che il rischio connesso al consumo di prodotti della pesca crudi o poco cotti riguardi quelli provenienti da:

- Acqua dolce
- Acqua salata
- Entrambe le risposte precedenti

17. In che modo ha acquistato le informazioni che conosce in merito ai rischi connessi al consumo dei prodotti della pesca crudi o poco cotti?

- Percorsi di studi
- Televisione
- Social media
- Giornali
- Siti scientifici (es: CDC, Ministero della Salute, OMS/WHO)
- Riviste scientifiche di settore
- Amici, parenti, conoscenti

18. Ha mai letto il seguente cartello esposto in pescheria?

- Sì
- No



19. Quali dei seguenti parassiti che interessano i prodotti della pesca conosce?

- Anisachis
- Pseudoterranova
- Opisthorchis
- Diphyllobothrium
- Nessuno dei precedenti

20. Hai mai avuto un'esperienza diretta o indiretta con le parassitosi da consumo di prodotti della pesca?

- Sì, direttamente
- Sì, indirettamente (parenti, amici, conoscenti)
- No

21. Le piacerebbe saperne di più sui rischi connessi al consumo di prodotti della pesca crudi o poco cotti? Se sì in che maniera?

- *Eventuali risposte*

4.2 Campione studio

Il campione studio è risultato composto da 151 persone, che hanno avuto liberamente accesso al questionario e che hanno volontariamente deciso di compilare, in via anonima.

Idealmente il questionario avrebbe potuto raggiungere persone di qualsiasi luogo ed età; gli unici vincoli, intrinseci alla modalità stessa di somministrazione del questionario e alla sua forma, sarebbero stati la fruibilità del link e la lingua.

4.3 Risultati

4.3.1 Parte demografica

Nella Tabella 1 sono riportate le informazioni di carattere generale del campione. Il questionario è stato compilato da un pool piuttosto eterogeneo di persone, rappresentato da una maggioranza di individui tra i 20 ed i 25 anni (30%) e tra i 41 ed i 50 (22%). Tutte le fasce di età indicate nelle risposte sono state coperte, anche se solo una persona (0.17%) ha dichiarato di avere un'età pari o inferiore ai 14 anni.

La maggior parte del campione risiede in Italia (94%), mentre la piccola parte rappresentante gli Stati esteri è costituita da Tedeschi, Inglesi, Rumeni, Spagnoli, Svizzeri e Statunitensi. Per quanto riguarda la popolazione italiana, il 72,5% del campione ha dichiarato di vivere nelle Marche, mentre la restante parte del campione è così distribuita: Lazio 6,3%, Emilia Romagna 4,3%, Friuli Venezia Giulia 4,3%, Veneto 4,2%, Puglia 3,5%, Lombardia 2,1%, Piemonte 1,4%, Abruzzo 1,4%. Questo probabilmente trova motivo nel fatto che la maggior parte delle persone che hanno partecipato all'indagine sono conoscenze dell'autore del questionario stesso ed hanno avuto maggiore occasione di venire a contatto con lo studio.

Per quanto riguarda il livello di istruzione, la maggioranza del campione possiede una laurea (50,7%) o quantomeno ha terminato il ciclo di studi alla Scuola secondaria di secondo grado (45,3%). Solo una minima parte (4%) non ha continuato gli studi dopo il diploma di Scuola secondaria di primo grado. Questo fa sì che, con molta probabilità, una buona fetta degli utenti abbiano delle conoscenze base di biologia, utili per la comprensione del rischio connesso al consumo di prodotti della pesca potenzialmente infetti e per la comprensione delle conseguenze che possono realizzarsi in caso di zoonosi.

In merito alla condizione professionale, quasi la totalità del campione (più del 94%) è costituita da persone in età scolare o pre-pensione (lavoratori). In relazione al settore lavorativo, probabilmente ci sono state delle incomprensioni da parte degli utenti, in quanto ha risposto un numero di persone maggiore rispetto a quelle cui era rivolto il quesito. A ogni modo, un 17% ha affermato di lavorare nel settore sanitario ed un 9,3% nel settore alimentare: soltanto una piccola fetta del campione, pertanto, potrebbe avere delle basi più solide per la conoscenza delle parassitosi elencate nel questionario.

Infine, un 38,1% degli intervistati ha dichiarato di avere almeno delle basi di biologia, un 13% in igiene degli alimenti, un 11,7% in sicurezza alimentare, un 7,6% in ispezione degli alimenti e un 6,3% in parassitologia. Il 23% del campione non ha conoscenze in nessuno dei precedenti ambiti. Vengono riportate di seguito le risposte alle domande a carattere specifico.

Per quanto riguarda la domanda: "Tra le seguenti discipline, quali ha incontrato nel suo percorso di studi (a prescindere dal livello di istruzione ottenuto)?", dove era possibile scegliere più di una opzione, le risposte ottenute sono state 223, 85 persone e cioè il 38,1% degli intervistati hanno risposto "Biologia", 29 (13%) "Igiene degli alimenti", 26(11,7%) "Sicurezza alimentare", 14(6,3%) "Parassitologia", 17(7,6%) "Ispezione degli alimenti", mentre 52 persone (23,4%) non ha studiato nessuna delle precedenti materie.

Questo fa sì che la maggior parte del campione, come precedentemente supposto, possiede gli strumenti per comprendere il rischio di una parassitosi nel caso di consumo di prodotti della pesca parassitati e non adeguatamente trattati.

Domanda	Risposte possibili	Numero di risposte (%)
1) In quale fascia di età rientra?	<=14 15-19 20-25 26-30 31-40 41-50 51-60 >61	n 1 (0,7%) n 16 (10,6%) n 45 (30%) n 11 (7,4%) n 21 (14%) n 33 (22%) n 19 (12,6%) n 4 (2,7%)
2) In quale Paese vive?	Italia Estero	n 142 (94%) n 9 (6%)
3) Se proviene da un altro Paese, da quale?	Francia Germania Romania Spagna Svizzera Usa	n 1 (11,1%) n 2 (22,2%) n 1 (11,1%) n 1 (11,1%) n 2 (22,2%) n 1 (11,1%)

4) Se vive in Italia, in quale Regione vive?	Abruzzo Emila Romagna Friuli Venezia Giulia Lazio Lombardia Marche Piemonte Puglia Veneto	n 2 (1,4%) n 6 (4,3%) n 6 (4,3%) n 9 (6,3%) n3 (2,1%) n 103 (72,5%) n 2 (1,4%) n 5 (3,6%) n 6 (4,2%)
5) Qual è il livello più alto di istruzione che ha ricevuto?	Scuola primaria Licenza media Diploma di scuola superiore Laurea triennale/magistrale	n 0 (0%) n 6 (4%) n 68 (45,3%) n 77 (50,7%)
6) Qual è la sua condizione attuale?	Studente Lavoratore Studente-lavoratore Disoccupato Altro	n 38 (25,4%) n 78 (52%) n 25 (16,7%) n 3 (1,3%) n 7 (4,6%)
7) Se lavora, è occupato in uno dei seguenti settori?	Alimentare Sanitario Educazione in ambito sanitario Nessuno dei precedenti	n 11 (9,3%) n 20 (17%) n 0 (0%) n 87 (73,7%)
8) Tra le seguenti discipline, quali ha incontrato nel suo percorso di studi?	Biologia Igiene degli alimenti Sicurezza alimentare Parassitologia Ispezione degli alimenti Nessuna delle precedenti	n 85 (38,1%) n 29 (13%) n 26 (11,6%) n 14 (6,3%) n 17(7,6%) n 52 (23,4%)

Tabella 1 – Informazioni di carattere generale

4.3.2 Parte specifica

Alla domanda: “Quanto spesso consuma prodotti della pesca poco cotti?”, 63 persone (41,7%) hanno risposto “meno di una volta al mese”, 51 (33,8%) “mai”, 30 (19,9%) “2 volte al mese”, 7 (4,6%) “una o più volte a settimana”. Questo significa che il campione non è strettamente rappresentativo della popolazione che consuma abitualmente prodotti considerabili a rischio.

Domanda 9

151 risposte

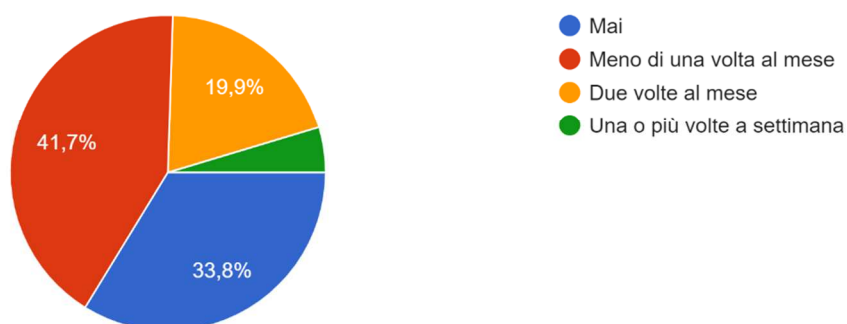


Grafico 1 Risposta alla domanda “Quanto spesso consuma prodotti della pesca poco cotti?”

Alla domanda: “Quanto spesso consuma prodotti della pesca crudi?”, 84 persone (55,6%) hanno risposto “meno di una volta al mese”, 33 (23,2%) “Mai”, 28 (18,5%) “2 volte al mese”, 4 (2,6%) “1 o più volte a settimana”.

Domanda 10

151 risposte

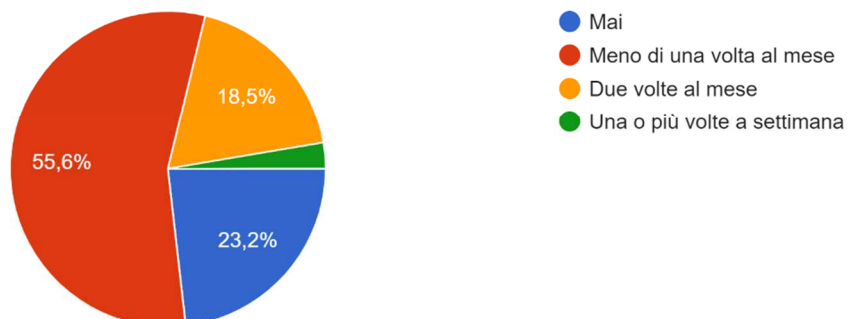


Grafico 2 Risposta alla domanda "Quanto spesso consuma prodotti della pesca crudi?"

Alla domanda: "se consuma prodotti crudi o poco cotti...", 113 (89,7%) hanno risposto di acquistarli già pronti in negozio/ristorante, 13 (10,3%) li prepara accasa acquistando il prodotto crudo.

Domanda 11

126 risposte

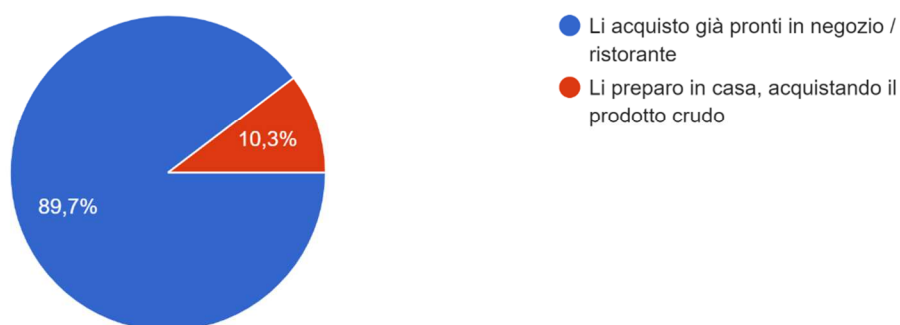


Grafico 3 Risposta alla domanda "se consuma prodotti crudi o poco cotti..."

Alla domanda: “Se prepara in casa piatti a base di prodotti della pesca crudi o poco cotti...”, 31 persone (46,3%) ha risposto di conservare il pescato in frigo, 21 (31,3%) conserva il pescato in congelatore non facendo caso alla temperatura né alla durata del congelamento, 15 (22,4%) tratta il pescato a -18°C per almeno 96ore in un frigorifero A***.

Domanda 12

67 risposte

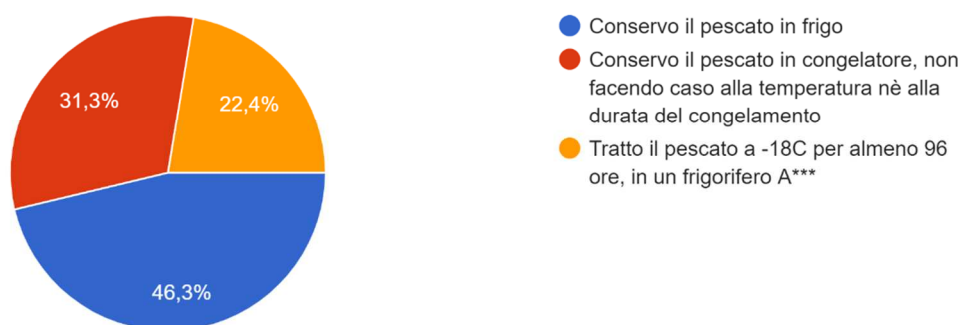


Grafico 4 Risposta alla domanda “Se prepara in casa piatti a base di prodotti della pesca crudi o poco cotti...”

Alla domanda: “Pensa che il consumo dei prodotti della pesca poco cotti possa essere rischioso per la salute?”, 80 persone (53%) hanno risposto “Sì”, 58 (38,4%) “Forse”, 13 (8,6%) “No”.

Domanda 13

151 risposte

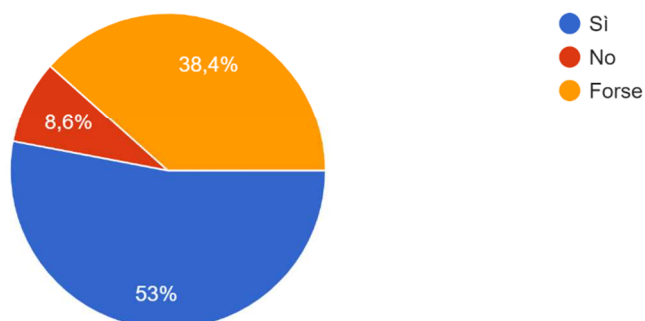


Grafico 5 Risposta alla domanda "Pensa che il consumo dei prodotti della pesca poco cotti possa essere rischioso per la salute?"

Alla domanda: "Pensa che il consumo di prodotti della pesca crudi possa essere rischioso per la salute?", 85 persone (56,7%) hanno risposto "Sì", 52 (34,7%) "Forse", 13 (8,7%) "NO".

Domanda 14

150 risposte

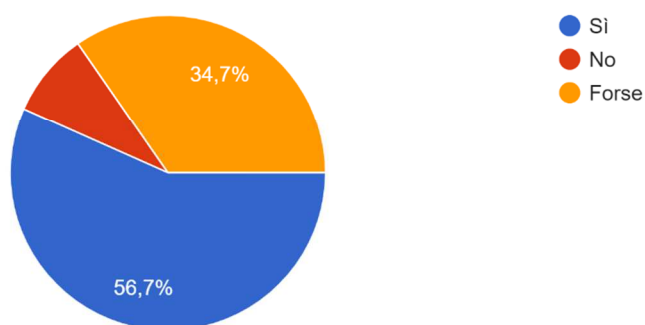


Grafico 6 Risposta alla domanda "Pensa che il consumo di prodotti della pesca crudi possa essere rischioso per la salute?"

Alla domanda: "Quali pensa che possano essere i principali rischi connessi all'assunzione dei prodotti della pesca crudi o poco cotti?", 130 persone (86,1%) hanno risposto "Pericoli biologici (parassiti, batteri, virus)", 20 (13,2%) "Pericoli chimici (es: metalli pesanti, microplastiche, residui delle industrie)", 1 (0,7%) "Nessuno"

Domanda 15
151 risposte

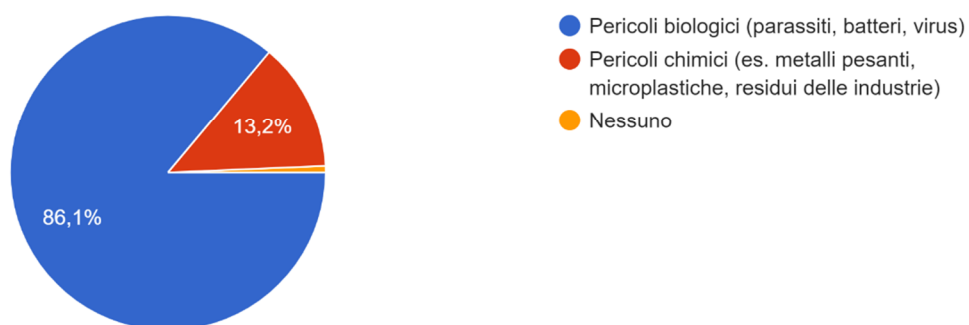


Grafico 7 Risposta alla domanda "Quali pensa che possano essere i principali rischi connessi all'assunzione dei prodotti della pesca crudi o poco cotti?"

Alla domanda: "Ritiene che il rischio connesso al consumo di prodotti della pesca crudi o poco cotti riguardi quelli provenienti da...?", 4 persone (2,6%) hanno risposto "Acque dolci", 8 (5,3%) "Acque salate", 139 (92,1%) "Entrambe le risposte precedenti".

Domanda 16

151 risposte

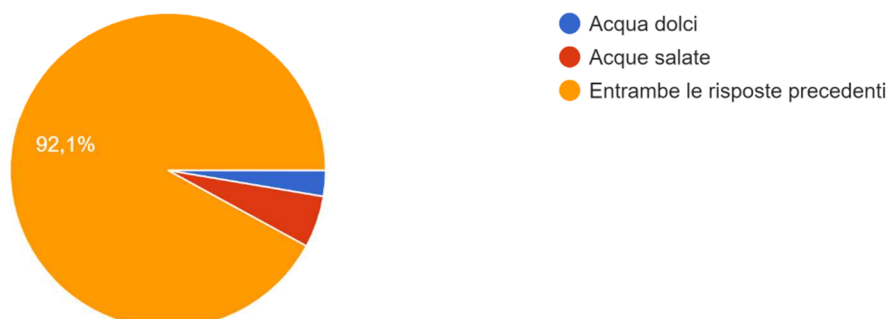


Grafico 8 Risposta alla domanda "Ritiene che il rischio connesso al consumo di prodotti della pesca crudi o poco cotti riguardi quelli provenienti da..."

Alla domanda: "In che modo ha acquisito le informazioni che conosce in merito ai rischi connessi al consumo dei prodotti della pesca crudi o poco cotti?" (prevista risposta multipla), 65 persone (20,8%) hanno risposto: "Amici, parenti, conoscenti", 47 (15,1%) "Percorso di studi", 53 (17%) "Televisione", 51 (16,3%) "Social media", 40 (12,8%) giornali, 37 (11,9%) "Siti scientifici (ES. CDC, Ministero della Salute", OMS/WHO), 19 (6,1") "Riviste scientifiche di settore".

Domanda 17

149 risposte

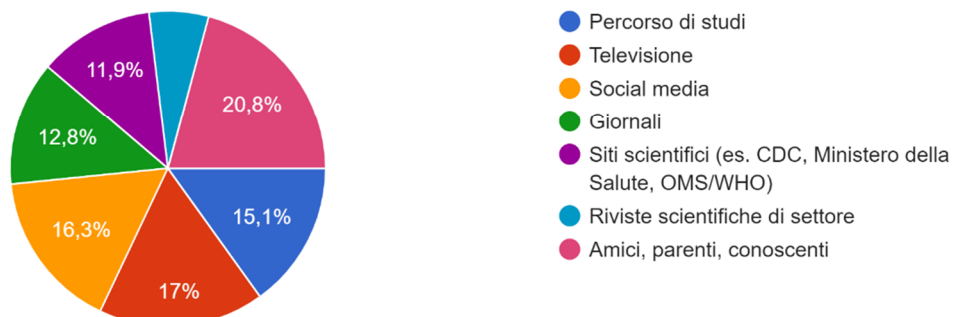


Grafico 9 Risposta alla domanda "In che modo ha acquisito le informazioni che conosce in merito ai rischi connessi al consumo dei prodotti della pesca crudi o poco cotti?"

Alla domanda: "Ha mai letto il seguente cartello, esposto in pescheria?", 111 persone (73,5%) hanno risposto "No", 40 (26,5%) "Si".



Figura 7 Cartello informativo per il consumo dei prodotti ittici (fonte: Ministero della Salute)

Domanda 18

151 risposte

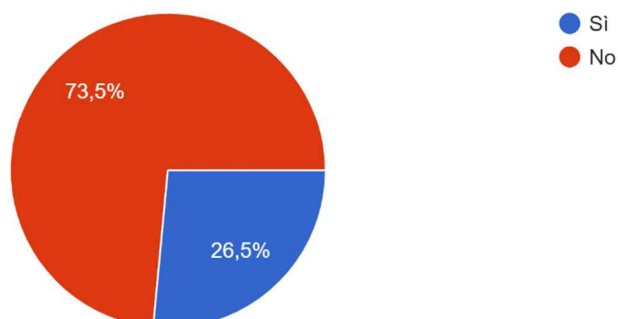


Grafico 10 Risposta alla domanda "Ha mai letto il seguente cartello, esposto in pescheria?"

Alla domanda: "Quali dei seguenti parassiti che interessano i prodotti della pesca conosce?", (prevista risposta multipla) 57 persone (32,4%) hanno risposto "Anisakis", 11 (6,3%) "Pseudoterranova", 11 (6,3%) "Opisthorchis", 10 (5,6%) "Diphyllobothrium", 87 (49,4%) "Nessuno dei precedenti".

Domanda 19

149 risposte

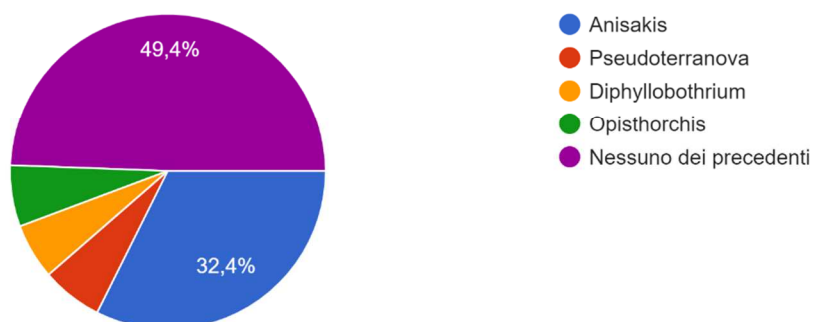


Grafico 11 Risposta alla domanda "Quali dei seguenti parassiti che interessano i prodotti della pesca conosce?"

Alla domanda: “Ha mai avuto un’esperienza diretta o indiretta con le parassitosi da consumo di prodotti della pesca?”, 109 persone (72,2%) hanno risposto “No”, 32 (21,2%) “Si direttamente (parenti, amici, conoscenti), 10 (6,6%) “Si direttamente”.

Domanda 20
151 risposte

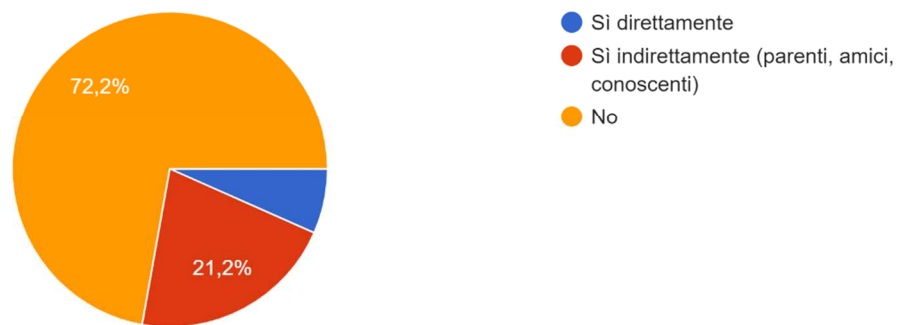


Grafico 12 Risposta alla domanda “Ha mai avuto un’esperienza diretta o indiretta con le parassitosi da consumo di prodotti della pesca?”

Alla domanda: “Le piacerebbe saperne di più sui rischi connessi al consumo di prodotti della pesca crudi o poco cotti? Se si, in che maniera?” (domanda aperta e quindi sprovvista di grafico finale), la maggior parte del campione intervistato non era interessato ad approfondire l’argomento, mentre le 63 persone che hanno espresso il desiderio di ricevere maggiori informazioni in materia, preferirebbero o essere informate al momento dell’acquisto o trovare più informazioni attraverso i mass-media.

5 Discussione

Lo svolgimento di questo lavoro mirava a principalmente all'obiettivo di indagare quanto la popolazione fosse conscia del rischio di parassitosi conseguente al consumo di prodotti della pesca crudi o poco cotti. Di riflesso, le domande elaborate per il questionario sono state impostate in modo da sperare di suscitare interesse nel lettore, quantomeno in quello che afferma di consumare tali alimenti a rischio.

Nella prima parte dell'elaborato si sono descritti i principali parassiti causa di infezione nell'uomo e quali malattie questi provocano; nello specifico, si è parlato di ciclo vitale, epidemiologia, diagnosi, prognosi e prevenzione. Quest'ultima risulta di particolare interesse per la figura del tecnico della prevenzione, che si inserisce – nel caso specifico – tra produttore, ovvero l'OSA, ed il consumatore, allo scopo di prevenire e limitare l'insorgenza di malattie a trasmissione alimentare.

In considerazione del fatto che gli OSA sono obbligati per legge alla tutela della salute del consumatore (Reg. (CE) N. 178/2002, Reg. (CE) N. 852/2004), e che devono quindi forzatamente mettere in atto una serie di operazioni che riducano il rischio di malattia a trasmissione alimentare nel consumatore del loro prodotto, si è reputato più interessante andare a studiare il livello conoscitivo del consumatore stesso, in materia di zoonosi parassitarie legate ai prodotti della pesca.

Il campione ottenuto si è dimostrato composto da individui non particolarmente abituati ad un comportamento rischioso, difatti la maggior parte delle persone ha dichiarato di non consumare affatto prodotti della pesca crudi o poco cotti o di consumarli meno di una volta al mese. Sarebbe stato più interessante se la preponderanza del campione avesse coinciso con chi, invece, fa uso abituale di tali alimenti.

La maggior parte degli intervistati (89.7%) ha affermato che quando consuma tali alimenti a rischio lo fa in un ristorante o li acquista già pronti. Questo dato, incrociato con le risposte della domanda inerente al trattamento che viene operato in casa quando si decide per la preparazione e consumazione domestica di prodotti della pesca crudi o poco cotti, fa supporre che effettivamente gli intervistati non siano molto informati in merito alle buone prassi per ridurre il rischio di contrarre le zoonosi in oggetto. In effetti, recandosi al ristorante o acquistando il prodotto già pronto, non è per loro necessario conoscere le operazioni tese a ridurre la probabilità di contrarre una parassitosi. Solo un 22,4% del campione, infatti, tratta alla temperatura adeguata i prodotti della pesca quando li voglia consumare crudi o poco cotti (tra l'altro, corrisponde al 73,5% la percentuale di chi non ha mai letto il cartello ministeriale esposto in pescheria e riportante le indicazioni per il trattamento domestico dei prodotti della pesca, in caso di preparazione di piatti a base di pesci e cefalopodi crudi o poco cotti). Il fatto che un 80% circa del campione non abbia mai trattato il pesce in maniera adeguata e non abbia comunque contratto la parassitosi (infatti la percentuale di chi ha avuto esperienza diretta è pari allo zero) può essere ascrivibile a due fattori: il primo è l'assenza della parassitosi nel prodotto consumato, il secondo è l'efficacia delle operazioni eseguite dagli OSA sul prodotto, da quando questo viene pescato a quando viene ceduto al consumatore finale. Inoltre, è anche ipotizzabile che se la percentuale di chi ha avuto contatti diretti o indiretti con le zoonosi in oggetto fosse alta, l'attenzione durante la preparazione domestica sarebbe maggiore: se il livello d'informazione non va sottovalutato, non va nemmeno sottostimata la componente "esperienza".

Entrando più nello specifico in relazione al livello di informazione del consumatore, la maggior parte delle persone sa, o perlomeno immagina, che l'incompleta o mancata cottura dei prodotti della pesca comporta un rischio, tuttavia una fetta del campione lo ignora completamente (8,6% per i prodotti

poco cotti e 8,7% per quelli crudi). Inoltre, un 86% del campione sa che il rischio di malattia alimentare, in questi casi, è connesso alla presenza di agenti biologici, tra i quali anche i parassiti. Il 92,1% ha infine riconosciuto che il problema della parassitosi deriva sia da prodotti di acqua salata che dolce.

In merito alla consapevolezza delle parassitosi da *Anisakis simplex*, *Pseudoterranova decipiens*, *Diphyllobothrium latum* ed *Opisthorchis felineus*, il livello è piuttosto basso (come ci si aspettava che fosse, trattandosi di nozioni molto specifiche). Un 32,4% degli intervistati, tuttavia, conosce o ha sentito parlare di *Anisakis simplex*, confermando come questa sia la parassitosi più rilevante.

In relazione alla fonte delle informazioni conosciute, amici, parenti e conoscenti sono risultati essere quella principale, con una percentuale pari al 20,8%, contro quella successiva del 17% offerta dalla televisione e quella del 16,3% dai social media. Solo un 15,1% e un 11,9%, rispettivamente, coincidono col percorso di studi e con siti scientifici/ufficiali (ad esempio CDC ed ISS). Un 12,8%, tuttavia, ha appreso le informazioni mediante lettura di articoli di giornale.

In ultimo, per quanto riguarda la volontà o meno di essere maggiormente informato sulla materia, il campione si è quasi diviso a metà, con una lieve tendenza al disinteresse (59%). La frazione di campione interessata, invece, si divide sul modo in cui vorrebbe trovare le informazioni: ovviamente data l'alta digitalizzazione della società attuale, in parecchi preferirebbero mass e social media, ma alcuni hanno espresso anche il desiderio di essere informati direttamente nei luoghi al momento dell'acquisto. Una opzione valevole, per esempio, potrebbe essere quella di esporre in maniera più visibile il cartello già presente, oppure renderlo più accattivante.

6 Conclusioni

Dallo studio condotto sulle condizioni di anisakidosi, difillobotriasi ed opistorchiasi si è compreso che, nella maggioranza dei casi, i quadri clinici sono lievi e che l'incidenza di queste condizioni nel nostro Paese è abbastanza bassa. Si vuole precisare, tuttavia, come sia comunque possibile lo sviluppo di condizioni cliniche gravi, talora fatali, soprattutto quando la diagnosi occorre tardivamente. Nell'ottica di un trend in crescita per il consumo di prodotti della pesca crudi o poco cotti anche in regioni del nostro Paese dove questa abitudine alimentare non era in realtà radicata, si auspica che il presente lavoro di tesi possa rappresentare lo spunto per altre indagini future, nonché una raccolta di dati utilizzabili negli studi di settore.

Tra le risposte del questionario somministrato, quella che più è saltata all'occhio è il buon livello di conoscenza della presenza di un rischio biologico quando si consumano crudità di pesce o prodotti ittici sottoposti a trattamenti di conservazione che non adoperano temperature sufficientemente alte/basse per i tempi necessari. Dati poco rassicuranti, invece, sono quelli che evidenziano come circa la metà dei consumatori non abbatta il pesce prima di consumarlo e che circa tre quarti del campione non abbia mai letto il cartello informativo ministeriale esposto nelle pescherie. La richiesta di maggiori informazioni riguarda una buona percentuale dei consumatori, il metodo prediletto è quello dei social seguito da una richiesta di maggiori informazioni al momento dell'acquisto, sottolineando una certa pigrizia da parte del campione in quanto lo stesso in precedenza dichiara di non aver mai notato il cartello prima menzionato. Sulla base di quanto detto sopra, si invitano gli operatori del settore alimentare a coinvolgere di più i consumatori, nell'ottica di una maggiore prevenzione, e ad esporre in bella vista, segnalandole anche a voce, le informazioni ministeriali. Si vogliono infine sollecitare gli enti pubblici a creare e promuovere una campagna educativa che risulti efficace e che, per raggiungere tale scopo,

richiede una buona conoscenza della popolazione target e un monitoraggio costante del suo comportamento.

7 Bibliografia e sitografia

- Abollo E, Paggi L, Pascual S, D'Amelio S. Occurrence of recombinant genotypes of *Anisakis simplex* s.s. and *Anisakis pegreffii* (Nematoda: Anisakidae) in an area of sympatry. *Infect Genet Evol.* 2003 Sep;3(3):175-81
- Aibinu IE, Smooker PM, Lopata AL. *Anisakis* Nematodes in Fish and Shellfish- from infection to allergies. *Int J Parasitol Parasites Wildl.* 2019 Jun 6;9:384-393.
- Alicja Guttowa, Bozena Mosca The history of the exploration of the *Diphyllobothrium latum* life cycle, *Wiad Parazytol* 2005 ;51(4):359-64.
- Alva A, Cangalaya C, Quiliano M, Krebs C, Gilman RH, Sheen P, Zimic M. Mathematical algorithm for the automatic recognition of intestinal parasites. *PLoS One.* 2017 Apr 14;12(4):e0175646. doi:
- Audicana MT, Kennedy MW. *Anisakis simplex*: from obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity. *Clin Microbiol Rev.* 2008 Apr;21(2):360-79, table of contents.
- CDC – National Center for Health Statistics – Homepage. Consultato il 17/01/2024 <https://www.cdc.gov/nchs/>.
- Chai JY, Jung BK, Hong SJ. Albendazole and Mebendazole as Anti-Parasitic and Anti-Cancer Agents: an Update. *Korean J Parasitol.* 2021 Jun;59(3):189-225
- De Liberato C, Scaramozzino P, Brozzi A, Lorenzetti R, Di Cave D, Martini E, Lucangeli C, Pozio E, Berrilli F, Bossù T. Investigation on *Opisthorchis felinus* occurrence and life cycle in Italy. *Vet Parasitol.* 2011 Apr 19;177(1-2):67-71.
- Scientific Opinion on risk assessment of parasites in fishery products. Consultato il 04/01/2024. <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1543>
- Fattakhov RG. Nizkotemperaturnye rezhimy obezzarazhivaniia ryby ot lichinok opistorkhisa [Low-temperature regimens for the decontamination of fish of the larvae of *Opisthorchis*]. *Med Parazitol (Mosk).* 1989 Sep-Oct;(5):63-4. Russian. PMID: 2615715
- Fedorova OS, Kovshirina YV, Kovshirina AE, Fedotova MM, Deev IA, Petrovskiy FI, Filimonov AV, Dmitrieva AI, Kudryakov LA, Saltykova IV, Odermatt P, Ogorodova LM. *Opisthorchis felinus* infection and

- cholangiocarcinoma in the Russian Federation: A review of medical statistics. *Parasitol Int.* 2017 Aug;66(4):365-371.
- Fukita Y, Asaki T, Katakura Y. Some like it raw: an unwanted result of a sushi meal. *Gastroenterology.* 2014 May;146(5):e8-9.
 - Gómez B, Lasa E, Arroabarren E, Garrido S, Anda M, Tabar AI. Alergia a *Anisakis simplex* [Allergy to *Anisakis simplex*]. *An Sist Sanit Navar.* 2003;26 Suppl 2:25-30. Spanish. PMID: 13679960.
 - Guardone L, Armani A, Nucera D, Costanzo F, Mattiucci S, Bruschi F. Human anisakiasis in Italy: a retrospective epidemiological study over two decades. *Parasite.* 2018;25:41
 - Gustinelli A, Menconi V, Prearo M, Caffara M, Righetti M, Scanzio T, Raglio A, Fioravanti ML. Prevalence of *Diphyllobothrium latum* (Cestoda: Diphyllobothriidae) plerocercoids in fish species from four Italian lakes and risk for the consumers. *Int J Food Microbiol.* 2016 Oct 17;235:109-12.
 - Hara Y, Uruma T, Morishima Y, Hirai Y. 'Tingling throat syndrome' as asymptomatic anisakiasis following conveyor belt sushi consumption in Tokyo. *Int J Infect Dis.* 2019 May;82:102-103.
 - Hochberg NS, Hamer DH. Anisakidosis: Perils of the deep. *Clin Infect Dis.* 2010 Oct 1;51(7):806-12.
 - Hoshino C, Narita M. *Anisakis simplex*-induced anaphylaxis. *J Infect Chemother.* 2011 Aug;17(4):544-6
 - IDENTIFICAZIONE DI UOVA DI *Opisthorchis* spp MEDIANTE PCR. Consultato il 10/03/2024.
<https://www.iss.it/documents/20126/6695368/MI-08+%28rev+3%29+Identificazione+Opistorchis+mediante+PCR+%281%29.pdf/0a717189-7cbc-476d-77fb-2948986fb2a2?t=1652364240970>.
 - K Andersen, The development of the tapeworm *Diphyllobothrium latum* (L. 1756) (Cestoda; Pseudophyllidea) in its definitive hosts, with special references to the growth patterns of *D. dendriticum* (Nitzsch, 1824) and *D. ditremum* (Creplin, 1827), *Parasitology* 1978 Aug;77(1):111-20.
 - Khan AS, Dageforde LA. Cholangiocarcinoma. *Surg Clin North Am.* 2019 Apr;99(2):315-335.
 - Kochanowski M, Dąbrowska J, Różycki M, Karamon J, Sroka J, Cencek T. Proteomic Profiling Reveals New Insights into the Allergomes of *Anisakis simplex*, *Pseudoterranova decipiens*, and *Contracaecum osculatum*. *J Parasitol.* 2020 Oct 1;106(5):572-588.

- Koh MS, Huh S, Sohn WM. A case of gastric pseudoterranoviasis in a 43-year-old man in Korea. *Korean J Parasitol.* 1999 Mar;37(1):47-9.
- Lee EB, Song JH, Park NS, Kang BK, Lee HS, Han YJ, Kim HJ, Shin EH, Chai JY. A case of *Diphyllobothrium latum* infection with a brief review of diphyllobothriasis in the Republic of Korea. *Korean J Parasitol.* 2007 Sep;45(3):219-23. doi: 10.3347/kjp.2007.45.3.219. PMID: 17876168; PMCID: PMC2526323.
- Lee SH, Chai JY, Hong ST, Sohn WM, Huh S, Cheong EH, Kang SB. [Seven cases of *Diphyllobothrium latum* infection]. *Kisaengchunghak Chapchi.* 1989 Sep;27(3):213-6. Korean.
- Ludovisi A, Di Felice G, Carballeda-Sangiao N, Barletta B, Butteroni C, Corinti S, Marucci G, González-Muñoz M, Pozio E, Gómez-Morales MA. Allergenic activity of *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda: Anisakidae) in BALB/c mice. *Parasit Vectors.* 2017 Jun 12;10(1):290
- Lvova MN, Ponomarev DV, Tarasenko AA, Kovner AV, Minkova GA, Tsyganov MA, Li M, Lou Y, Evseenko VI, Dushkin AV, Sorokina IV, Tolstikova TG, Mordvinov VA, Avgustinovich DF. Curcumin and Its Supramolecular Complex with Disodium Glycyrrhizinate as Potential Drugs for the Liver Fluke Infection Caused by *Opisthorchis felinus*. *Pathogens.* 2023 Jun 9;12(6):819.
- Moore DA, Girdwood RW, Chiodini PL. Treatment of anisakiasis with albendazole. *Lancet.* 2002 Jul 6;360(9326):54
- Murata Y, Ando K, Usui M, Sugiyama H, Hayashi A, Tanemura A, Kato H, Kuriyama N, Kishiwada M, Mizuno S, Sakurai H, Isaji S. A case of hepatic anisakiasis caused by *Pseudoterranova decipiens* mimicking metastatic liver cancer. *BMC Infect Dis.* 2018 Dec 4;18(1):619.
- Nordholm A, Kurtzhals JAL, Karami AM, Kania PW, Buchmann K. Nasal localization of a *Pseudoterranova decipiens* larva in a Danish patient with suspected allergic rhinitis. *J Helminthol.* 2020 Sep 14;94:e187
- Ogorodova LM, Fedorova OS, Sripa B, Mordvinov VA, Katokhin AV, Keiser J, Odermatt P, Brindley PJ, Mayboroda OA, Velavan TP, Freidin MB, Sazonov AE, Saltykova IV, Pakharukova MY, Kovshirina YV, Kaloulis K, Krylova OY, Yazdanbakhsh M; TOPIC Consortium. Opisthorchiasis: an overlooked danger. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015 Apr 2;9(4):e0003563.

- Liver fluke (Opisthorchiidae) findings in red foxes (*Vulpes vulpes*) in the eastern part of the Federal State Brandenburg, Germany ± a contribution to the epidemiology of opisthorchiidosis. Consultato il 14-03-2024.
https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/48509266/Liver_fluke_Opisthorchiidae_findings_i20160902-31471-zc6ma4-libre.pdf?1472808867=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DLiver_fluke_Opisthorchiidae_findings_in.pdf&Expires=1710882070&Signature=FW23udpgR8E558lm2uUcwjye6yoSWk-h-6iG~yywbIE5rxtTDt-dmvdMPz~qNkiSm59w5V0z4h2w2muMhrvT2eEDXwauMfjsPtKYBw-Mp0jvMdmMB2HiEumEtzT-BFutEcxfulp9YlcoQrRndhLQkTUnX0U2mRveb5-UkT2yN71x8B8pxODT~a99xkwqf7Bd~E7zILakOY9I5rt9eTHuRVAd4OxM7RIVpPZD0uTCX79g~HXccdOaCLiS535F0ldNzdnH8EB~JXxGRJhG3dvQnzj~02OZoBHu0InypI2RT62uBs8-Xh2n3ZMDjgQT~tfOkikpveA92tGp0shVu4T4eg__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA
- Perina EA, Ivanov VV, Pershina AG, Perekucha NA, Dzyuman AN, Kaminskii IP, Saltykova IV, Sazonov AE, Ogorodova LM. Imbalance in the glutathione system in *Opisthorchis felinus* infected liver promotes hepatic fibrosis. *Acta Trop.* 2019 Apr;192:41-48.
- Pozio E, Armignacco O, Ferri F, Gomez Morales MA. *Opisthorchis felinus*, an emerging infection in Italy and its implication for the European Union. *Acta Trop.* 2013 Apr;126(1):54-62.
- Rivolta, S. (1884). Sopra una specie di *Distoma* nel gatto e nel cane. *Gior. Anat., Fisiol. e Patol. Animali.* 10 (1): 20–28. page(s): 20
- Roca-Geronès X, Sarrà-Alarcón L, Delgado E, Alcover MM, Casadevall M, Fisa R. Anisakid Presence in the European Conger, Conger conger, from Spanish Mediterranean Waters. *Pathogens.* 2023 Nov 8;12(11):1326
- Santos FL, de Faro LB. The first confirmed case of *Diphyllobothrium latum* in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2005 Oct;100(6):585-6.
- Scholz T, Garcia HH, Kuchta R, Wicht B. Update on the human broad tapeworm (genus *diphyllobothrium*), including clinical relevance. *Clin Microbiol Rev.* 2009 Jan;22(1):146-60, Table of Contents.
- Sharma K, Wijarnpreecha K, Merrell N. *Diphyllobothrium latum* Mimicking Subacute Appendicitis. *Gastroenterology Res.* 2018

Jun;11(3):235-237. doi: 10.14740/gr989w. Epub 2018 May 31. PMID: 29915635; PMCID: PMC5997473.

- Tabatabaei MS, Ahmed M. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Methods Mol Biol.* 2022;2508:115-134.
- Valls A, Pascual CY, Martín Esteban M. Anisakis y anisakiosis [Anisakis and anisakiosis]. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2003 Nov-Dec;31(6):348-55. Spanish.
- Xia J, Jiang SC, Peng HJ. Association between Liver Fluke Infection and Hepatobiliary Pathological Changes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2015 Jul 17;10(7):e0132673.
- Ziarati M, Zorriehzahra MJ, Hassantabar F, Mehrabi Z, Dhawan M, Sharun K, Emran TB, Dhama K, Chaicumpa W, Shamsi S. Zoonotic diseases of fish and their prevention and control. *Vet Q.* 2022 Dec;42(1):95-118.