

Rischio sanitario causato dalla manipolazione e dal consumo di prodotti ittici

Fulvio Salati

*Fish Disease and Aquaculture Center,
c/o IZS of Sardinia,
State Veterinary Institute, Oristano*

Faculty of Life Sciences, Alghero, Italy



Budoni, 17 Settembre 2007

Zoonosi ittiche

- **Parassiti dai prodotti della pesca.**
- **Batteri da prodotti ittici consumati crudi o poco cotti.**
- **Batteri presenti nell'ambiente di pesci pescati e/o allevati.**
- **Batteri causa di malattia nei pesci pescati e/o allevati.**

Gli animali acquatici rivestono spesso un ruolo importante nel ciclo biologico di parassiti eteroxeni che allo stadio adulto o larvale sono in grado di determinare patologia nell'uomo.

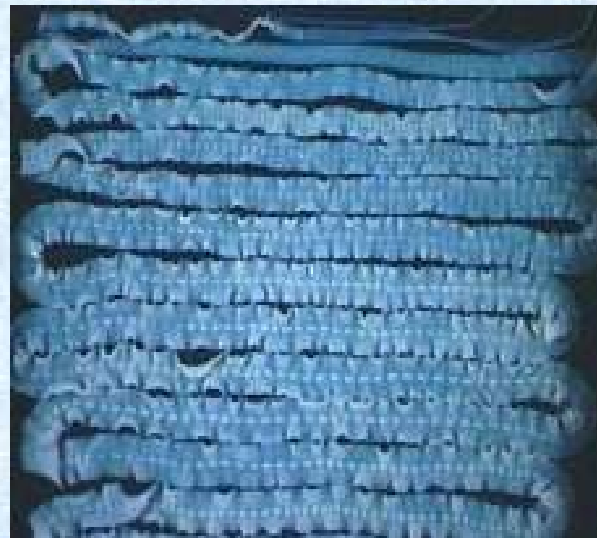
Quest'ultimo può comportarsi come:

- **ospite definitivo (Difilobotriosi, Heterofiosi, Opistorchiosi) od**
- **ospite accidentale (Anisakiosi, Clinostomosi).**

Difillobotriosi o plerocercosi

- **Malattia parassitaria sostenuta da Cestodi dell'ordine Pseudophyllidea, famiglia Diphylobothriidae**
- ***Diphylobothrium latum*: unica specie segnalata in Italia**
- **Altre specie descritte nel mondo: *D. pacificum*, *D. dalliae*, *D. dendriticum***
- **Ospite definitivo elettivo di *D. latum*:
uomo + cane, gatto, maiale, lupo ed altri mammiferi**

Difilobotrium latum



Difilobotriosi o plerocercosi

- **Distribuzione geografica: zone temperate e sub-artiche dell'emisfero settentrionale (Paesi Scandinavi, Siberia, Grandi laghi, Giappone, Cile, Europa centrale)**
- **Casi umani di difilobotriosi:**
 - 30 anni fa:**
 - **5 milioni in Europa**
 - **4 milioni in Asia**
 - **100.000 in America**
 - oggi:** **casi sporadici**
- **Specie ittiche più frequentemente parassitate da *D. latum* allo stadio larvale:**
 - **Luccio / Pesce persico / Bottatrice**
 - **salmone, trota iridea, ecc.**

Difillobotriosi o plerocercosi

- **In base a indagini recenti (Peduzzi e Boucher-Rodoni, 2001):**

in zone lacustri al confine italo-svizzero

- **feci umane: positività intorno a 6,5%**
- **pesci (*Perca fluviatilis*): positività tra 7,8 e 33,3%**

In queste zone la difillobotriosi si considerava eradicata dal 1970, poi un nuovo caso si è registrato nel 1983 e da allora: 31 nuovi casi

- **In Svizzera: 73 casi dal 1990 al 1995**

Difillobotriosi o plerocercosi

Sintomatologia e lesioni:

- **spesso paucisintomatica**
- **infiammazione catarrale dell'ileo e del digiuno (nei siti di attacco del parassita)**
- **dolori epigastrici, diarrea o costipazione, vomito, anoressia**
- **anemia perniciosa (per carenza di vit. B12)**
- **sintomatologia conclamata spt. in soggetti di età superiore a 30 anni**
- **rapida remissione dei sintomi dopo terapia**

Heterofidiosi

Sostenuta da trematodi digenei della famiglia *Heterophyidae* con adulti di piccole dimensioni (max. 2,5 mm)

Specie tipo:

Heterophyes heterophyes

+

Metagonimus spp.

Heterophyes heterophyes



Heterofidosi

- **Diffusione geografica: Estremo Oriente + Medio Oriente, con zone di forte endemia es. Egitto (delta del Nilo)**
- **In Europa: casi sporadici in Grecia, Spagna, Francia**
- **Italia: adulto segnalato in cani in Sicilia + metacercaria in Mugilidi in Sardegna / No casi umani**
- **Ospite definitivo: canidi, felidi, uccelli ittiofagi, uomo**
- **Sintomatologia nell'uomo: spesso assenza di sintomi, enterite con fenomeni necrotici ed ipersecrezione di muco + uova nel SNC e nel cuore**

Anisakiosi

- **Sostenuta da nematodi Anisakidae allo stadio larvale (3° stadio) assunti accidentalmente dall'uomo mediante ingestione di pesci e cefalopodi marini crudi o poco cotti**
- **Uomo = ospite non idoneo, per cui le larve ingerite vanno incontro a devitalizzazione nel giro di pochi giorni o poche settimane. Possono però penetrare attivamente nella mucosa gastrica o intestinale e determinare la formazione di granulomi eosinofili e/o reazioni flemmonose**
- **Prima segnalazione ufficiale: Van Thiel (1960) descrive in Olanda anisakiosi umana in correlazione all'abitudine di consumare aringhe affumicate a freddo ("green herring"). Da allora moltissimi casi descritti nel mondo.**

Larve di *Anisakis* sp. in pesce sciabola



Pesci in cui le larve anisakidi si localizzano soprattutto in cavità peritoneale e visceri

- aringa
- suro
- sgombro

Pesci in cui le larve anisakidi si localizzano a livello muscolare anche *intra vitam*:

- nasello
- merlano
- scorfano
- triglidi *Anisakis*

Specie ittiche dei mari italiani in cui si è rinvenuta la presenza di larve di *Anisakis*

- pesce sciabola (100%)
- nasello
- lanzardo
- pagello fragolino
- triglia di scoglio
- gallinella
- ricciola
- molva
- busbana
- aguglia
- pesce tamburo
- murena
- sardina
- sgombro
- boga
- pagro
- scorfano
- suro
- pesce s.pietro
- melù
- rana pescatrice
- tombarello
- pesce castagna
- tracina

Casi di Anisakiosi umana segnalati nel mondo:

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

In Italia, il 1° caso ad eziologia certa risale al 1996.

Attualmente sono stati rilevati 25 casi accertati di infestazione da larve di *Anisakis* sp., provenienti tutti dal centro-sud.

Nell'uomo, le larve di terzo stadio infettanti possono:

- invadere la mucosa gastrica**
- discendere nel lume intestinale e penetrare nella parete.**

Dopo aver provocato edema, iperemia e talvolta sanguinamento al momento della penetrazione, inducono una reazione infiltrativa di eosinofili e linfociti, seguita da una proliferazione connettivale con conseguente formazione di un granuloma.

Invasione della parete dello stomaco più frequente di quella intestinale; nell'intestino, l'ileo sembra essere più spesso coinvolto.

Forma gastro-enterica

La forma acuta gastrica è caratterizzata da forti dolori, nausea, vomito, diarrea ed insorge poche ore dopo l'ingestione del pesce parassitato; quella intestinale invece si manifesta dopo 6-7 giorni ed è difficilmente differenziabile da una appendicite acuta. La forma cronica, sia gastrica che intestinale, mostra sintomi aspecifici, difficili da differenziare da altre patologie infiammatorie croniche. Questa forma è stata classificata in 4 stadi conseguenziali: flemmone, ascesso, ascesso-granuloma, granuloma.

Sindrome allergica

I sintomi clinici comprendono angioedemi isolati, orticaria, shock anafilattico.

Alimento contaminato
con batteri vivi

Moltiplicazione batterica
nell'alimento prima del consumo

- NO
- *S. typhi*
 - *S. paratyphi*
 - *Shigella*
 - *Vibrio cholerae*

SI
Salmonelle minori

Infezione intestinale

Sindrome

Infezione
Enterotossica

Infezione
Enteroinvasiva

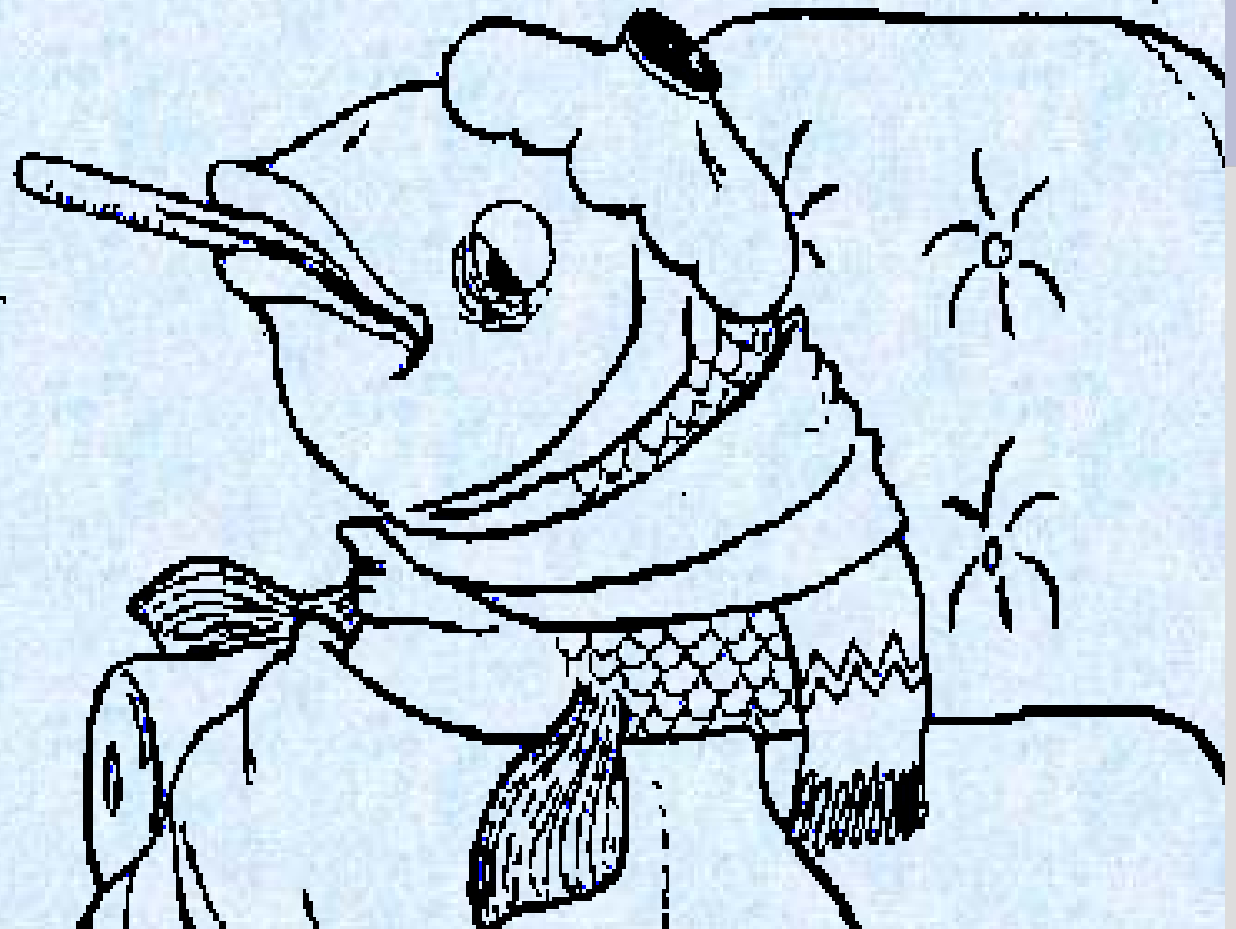
- Colera
- enteriti da *E. coli*

Tifo
Salmonellosi
Listeriosi
Shigellosi
Gastroenteriti da *Campylobacter*, *Yersinia*

Oltre ai parassiti ed ai batteri riscontrabili nei prodotti della pesca, alcuni batteri patogeni caratteristici anche delle specie ittiche allevate, sono stati recentemente segnalati quali causa di malessere o malattia nell'uomo.

Con lo sviluppo del metodo intensivo in acquacoltura, le patologie sono diventate talmente importanti, come in ogni altra attività zootecnica, da poterne condizionare l'efficienza economica





Le malattie dei pesci erano considerate, fino a pochi anni fa, caratteristiche dei soli pesci e non trasmissibili all'uomo



Recentemente però è stato riscontrato che alcuni patogeni dei pesci possono causare malattia nell'uomo

Patogeni	Distribuzione*
Batteri	
<i>Vibrio</i> spp.	C
<i>Aeromonas hydrophila</i>	C
<i>Edwardsiella tarda</i>	C
<i>Streptococcus iniae</i>	C
<i>Mycobacterium</i> spp.	C

*) C, Cosmopolita

Le vie di trasmissione di questi patogeni dei pesci all'uomo possono essere:

Patogeni

Infezione*

Batteri

<i>Vibrio</i> spp.	A, L
<i>Aeromonas hydrophila</i>	L
<i>Edwardsiella tarda</i>	L
<i>Streptococcus iniae</i>	L
<i>Mycobacterium</i> spp.	L, (A)

*) A, Alimentare, da consumo di prodotti crudi o poco cotti;
L, Lesioni, da manipolazione del prodotto o dall'ambiente.



© L. A. Actis, M. E. Tolmasky & J. H. Crosa

Tab. . Classificazione del genere *Vibrio*

- *V. aerogenes*
- *V. aestuarianus*
- *V. alginolyticus*
- *V. anguillarum*
- *V. anguillarum*
- *V. brasiliensis*
- *V. caghassii*
- *V. campbelli*
- *V. carchariae*
- *V. cholerae*
- *V. cincinnatienses*
- *V. coralliilyticus*
- *V. cyclitrophicus*
- *V. damsela*
- *V. diabolicus*
- *V. diazotrophicus*
- *V. ezurae*
- *V. fischeri*
- *V. fluvialis*

- V. fortis*
- V. furnissii*
- V. gallicus*
- V. gazogenes*
- V. haliotocoli*
- V. harveyi*
- V. hispanicus*
- V. hollisae*
- V. ichthyoenteri*
- V. kanaloae*
- V. lentus*
- V. logei*
- V. macinii*
- V. mediterranei*
- V. mimicus*
- V. mytili*
- V. natriegens*
- V. navarrensis*
- V. neptunius*

- V. nereis*
- V. nigripulchritudo*
- V. ordalii*
- V. orientalis*
- V. parahaemolyticus*
- V. pectenocida*
- V. pelagius*
- V. penaeocida*
- V. pomeroyi*
- V. proteolyticus*
- V. rotiferianus*
- V. rumoiensis*
- V. scopthalmi*
- V. splendidus*
- V. tasmaniensis*
- V. tubiashii*
- V. vulnificus*
- V. wodanis*
- V. xuii*

Listonella (Vibrio) anguillarum ed altri *Vibrio*, **Gram negativi**, causano la Vibriosi ittica, malattia infettiva sistemica caratterizzata setticemia ed ulcere emorragiche ed iperemia od emorragie agli organi interni.





© Bari R Howell

Vibrioni ittici in grado di
sviluppare patologie nell'uomo

V. alginolyticus
V. carchariae
V. cholerae
V. cincinnatiensis
V. damsela
V. fluvialis
V. furnissi
V. hollisae
V. metschnikovii
V. mimicus
V. parahaemolyticus
V. vulnificus



Vibrioni patogeni nell'uomo e negli organismi marini

Uomo:	Intestino:	<i>Vibrio cholerae</i>
		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
	Lesioni agli arti:	<i>Vibrio vulnificus</i>
Crostacei:		<i>Vibrio cholerae</i>
		<i>Vibrio vulnificus</i>
		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
Alghe:		<i>Vibrio cholerae</i>
Pesci:		<i>Vibrio cholerae</i>
		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
		<i>Vibrio vulnificus</i>
		<i>Vibrio fischeri</i>
Calamari:		<i>Vibrio fischeri</i>
Liberi nell'ambiente:		<i>Vibrio cholerae</i>
		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
		<i>Vibrio vulnificus</i>
		<i>Vibrio fischeri</i>

Infezione da *Vibrio paraheamolyticus* nell'uomo

Sintomi	Frequenza
• Diarrea	95%
• Crampi	92%
• Debolezza	90%
• Nausea	72%
• Mal di testa	48%
• Vomito	12%

Vibrio vulnificus

E' una specie che, benché fisiologicamente simile a *V. parahaemolyticus* ed alle altre specie del genere, è responsabile di una patologia estremamente diversa, di tipo setticemico piuttosto che enterico che, nel 40 - 60% dei casi può provocare la morte.

Infezione da *Vibrio vulnificus* nell'uomo

Nella maggior parte dei casi si sviluppano lesioni epidermiche a livello degli arti e delle estremità che possono prendere varie forme (eczemi, bolle, pustole, ulcerazioni).

Infezione da *Vibrio vulnificus* nell'uomo



Aeromonas hydrophila



Aeromonas hydrophila, **Gram negativo**, causa l'Aeromoniasi, malattia infettiva sistemica caratterizzata da ulcere necrotiche od iperemie a seconda della specie ittica colpita.



Infezione da *Aeromonas hydrophyla* nell'uomo

A) Gastroenteriti

- simil colera (febbre e feci acquose)
- dissenteria

B) Infezioni extraintestinali

- setticemia, meningiti, endocarditi, peritoniti, ulcerazioni corneali

Infezione da *Aeromonas hydrophila* nell'uomo



Edwardsiella tarda, Enterobacteriaceae, **Gram negativa**, causa l'Edwardsiellosi nelle anguille, malattia infettiva sistemica caratterizzata da iperemie ed ulcere emorragiche ed ascessi a rene e fegato.



Edwardsiella tarda può essere isolata anche da :

- uccelli,
- rane,
- rettili,
- alligatori e
- Molluschi.

Casi di isolamento di *E. tarda* dal 1993 al 1999 in pazienti ricoverati al Medical Center di Orleans

(Slaven *et al.*, 2001)

Paziente	Età	Sesso	Localizzazione
1	48	M	Braccio: mionecrosi dopo bagno in acqua salmastra
2	17	M	Gamba: dopo bagno in canale
3	18	F	Piede: dopo puntura con spine di pesce
4	28	M	Mani: ulcere
5	48	M	Dita: ulcere
6	39	F	Apparato riprod.: ascesso tubo-ovarici
7	28	F	Apparato riprod.: ghiandole del Bartolini
8	58	M	Dita: giradito
9	40	M	Ascessi perianali
10	62	F	Apparato digerente: colecistite
11	57	M	Apparato circolatorio: sangue

Infezione da *Edwardsiella tarda* nell'uomo

A) Gastroenteriti

- febbre e feci acquose
- dissenteria

B) Infezioni extraintestinali

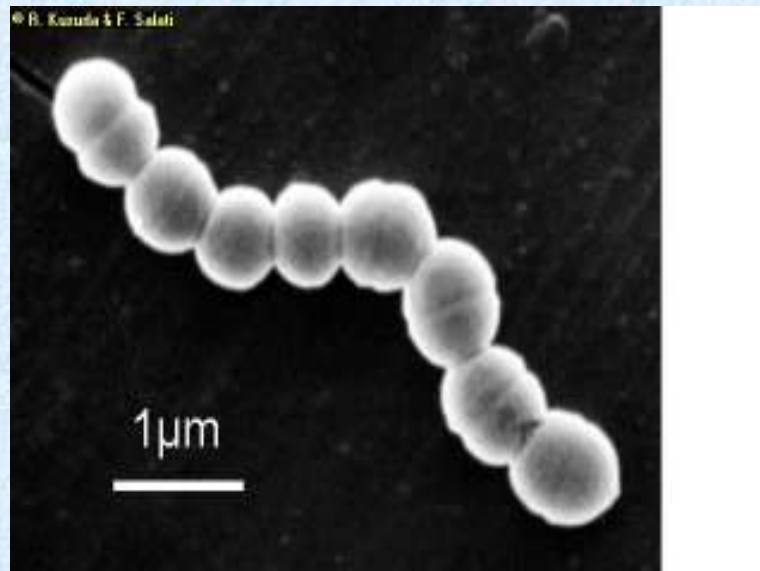
- setticemia, meningiti, endocarditi

Infezione da *Streptococcus iniae* nell'uomo

Infezioni cutanee e sistemiche

- setticemia, meningiti, endocarditi, peritoniti, ulcerazioni corneali?

Streptococcus iniae



Infezione da *Streptococcus iniae* nei pesci

© R. Kusuda & F. Salati

© R. Kusuda & F. Salati

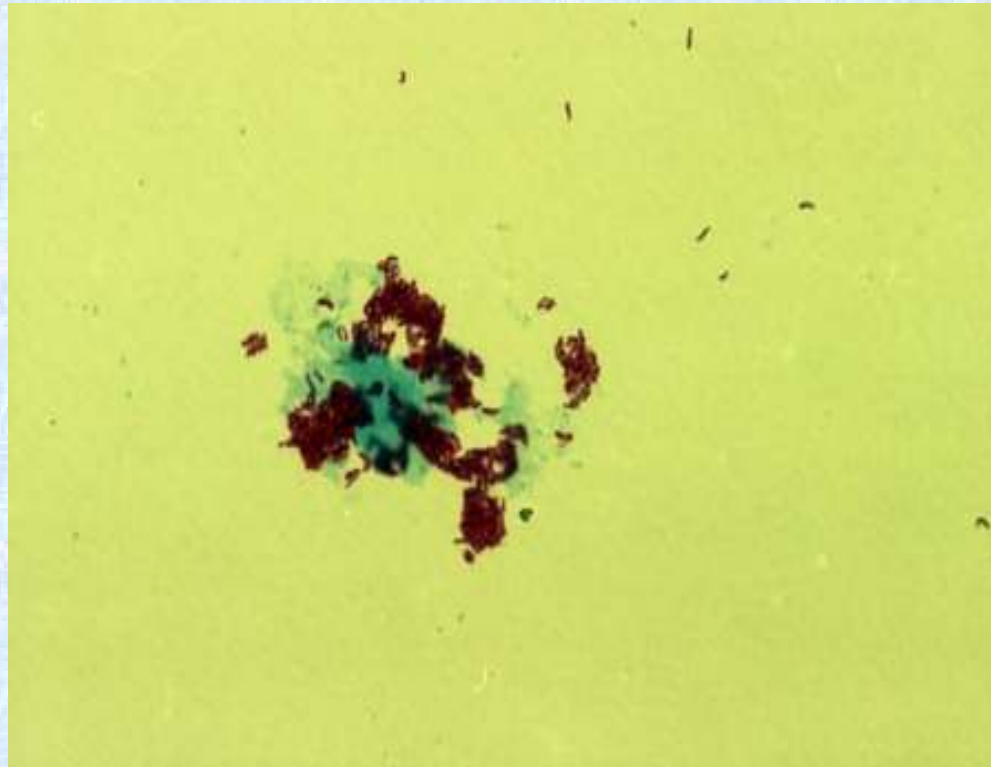


Infezione da *Streptococcus iniae* nell'uomo

Infezioni cutanee e sistemiche

- **setticemia, meningiti, endocarditi, peritoniti, ulcerazioni corneali**

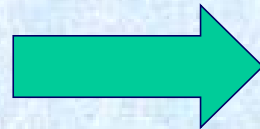
Mycobacterium spp.



Mycobacterium spp., **alcool-acido resistenti**, causano nei pesci la Mycobacteriosi ittica, o Tubercolosi ittica, una malattia sub-cronica – cronica diffusa in tutto il mondo e che colpisce oltre 150 specie ittiche (40 famiglie) compresi i Salmonidi.

Micobatteri causa di Micobatteriosi ittica

- *M. marinum*
- *M. fortuitum*
- *M. chelonae*
- *M. smegmatis*
- *M. aquae*
- *M. simiae*
- *M. scrofulaceum*
- *M. gordonae*
- *M. poriferae*
- *M. neoaurum*



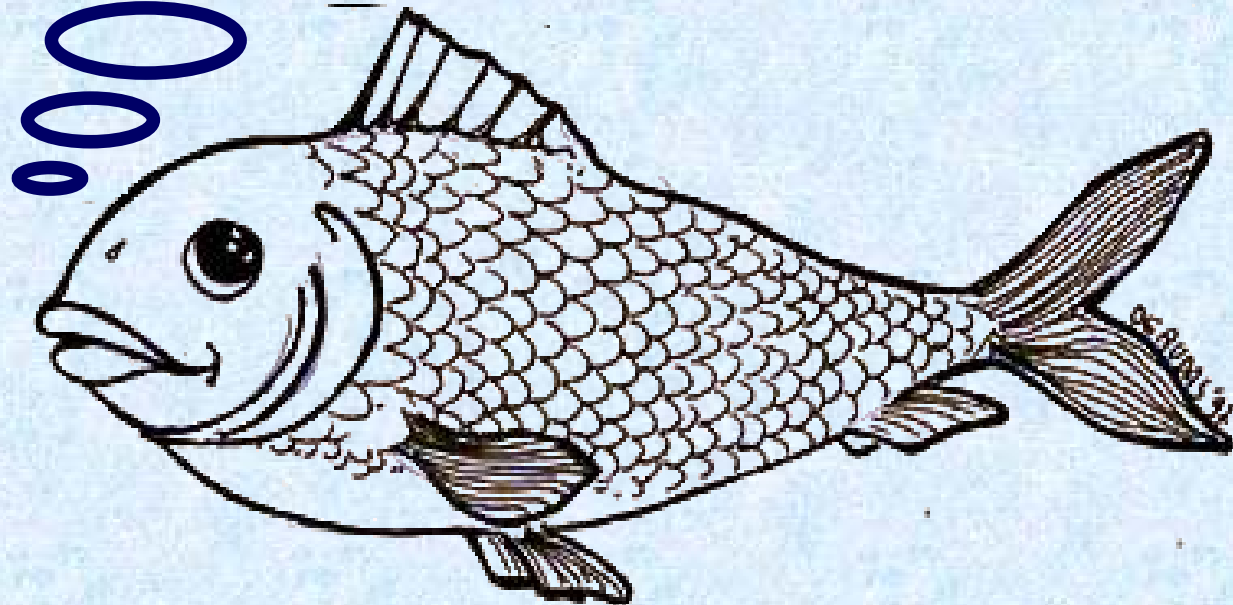
Sono stati segnalati nell'uomo,
quale malattia professionale in
lavoratori dell'acquacoltura ed
acquariofilia

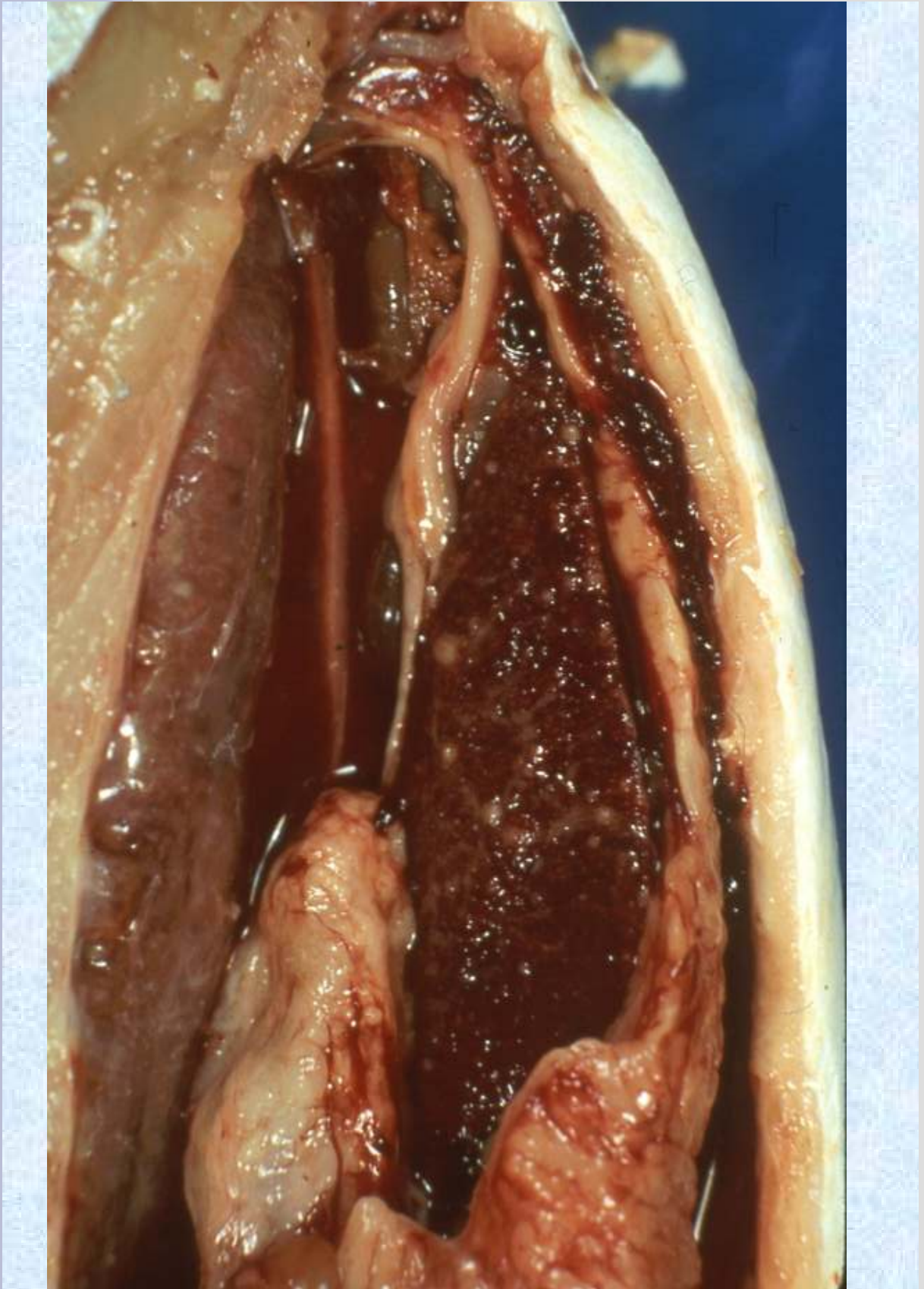
M. shottsii,
M. pseudoshottsii
M. chesapeaki



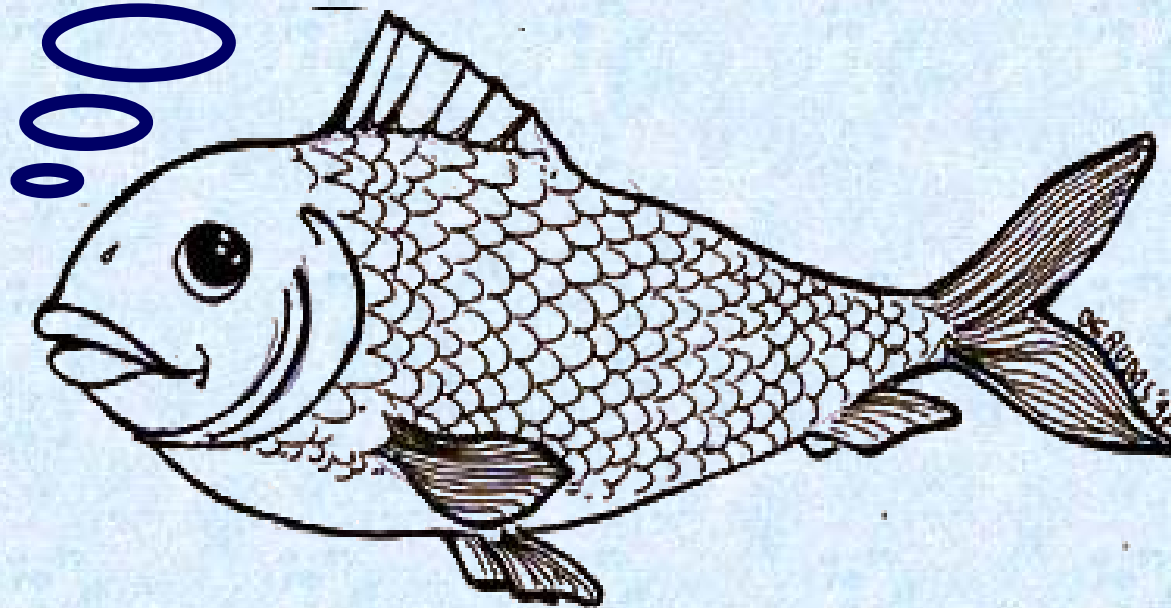
Nuove specie descritte in
USA a Chesapeake bay

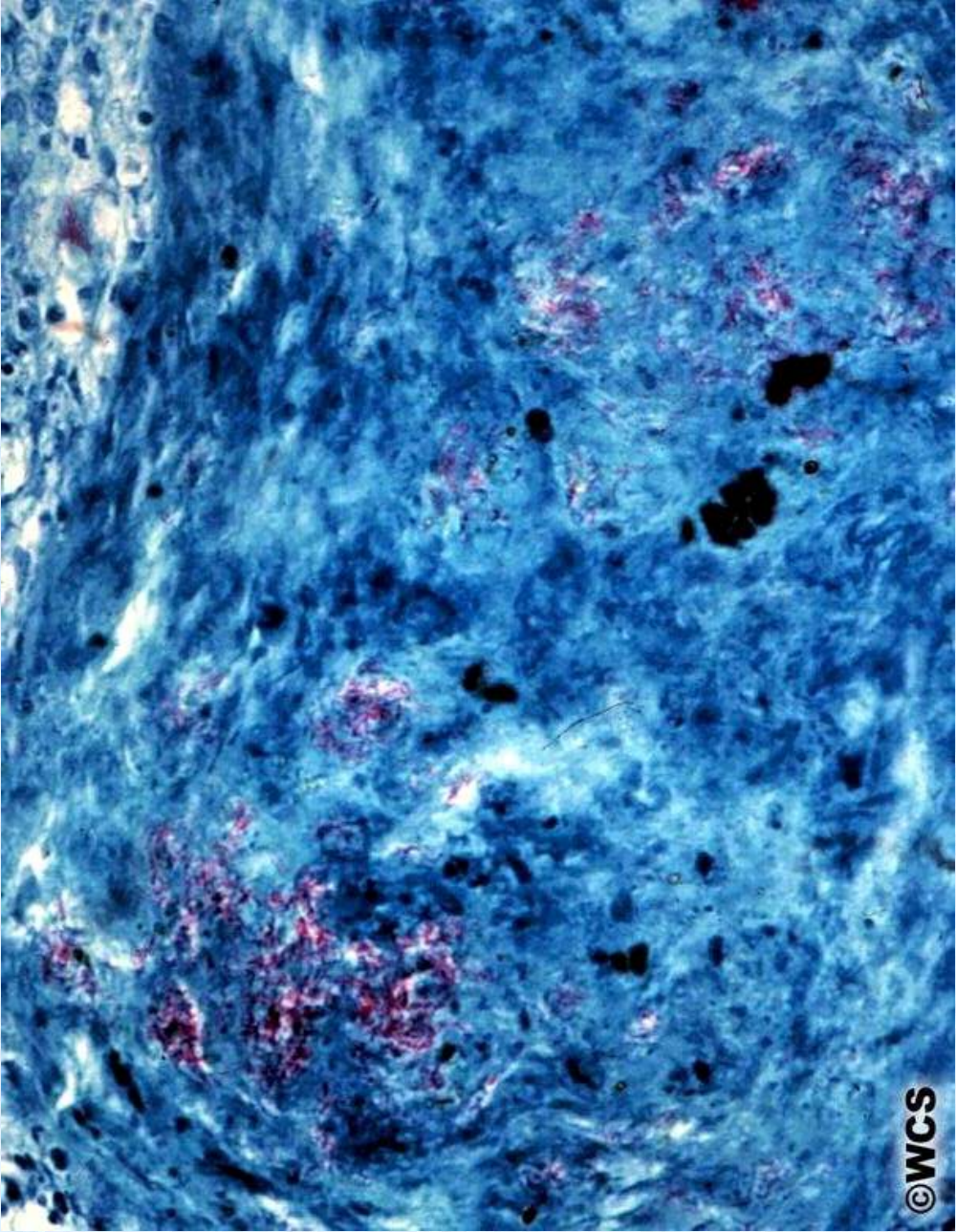
Nei pesci, *Mycobacterium marinum* causa malattia,
con lesioni caratteristiche



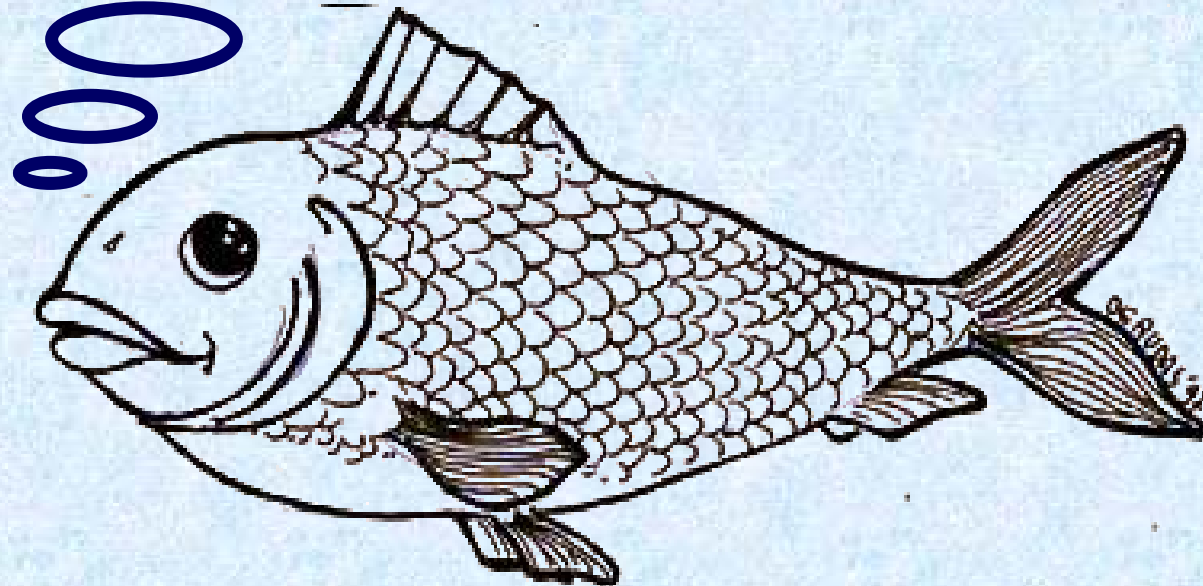


Dal punto di vista
istopatologico, le lesioni
da *M. marinum* sono dei
granulomi





Inoltre, *M. marinum* può
causare gravi lesioni
nell'uomo

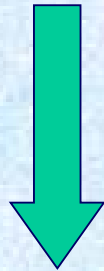






Metodi Colturali

1. Tessuti di pesci infetti
2. Omogeneizzazione
3. Decontaminazione (con acido ossalico)
4. Coltura con terreni selettivi



Test fenotipici e biochimici

- Middlebrook 7H10 + OADC
- Lowenstein-Jensen + glicerolo

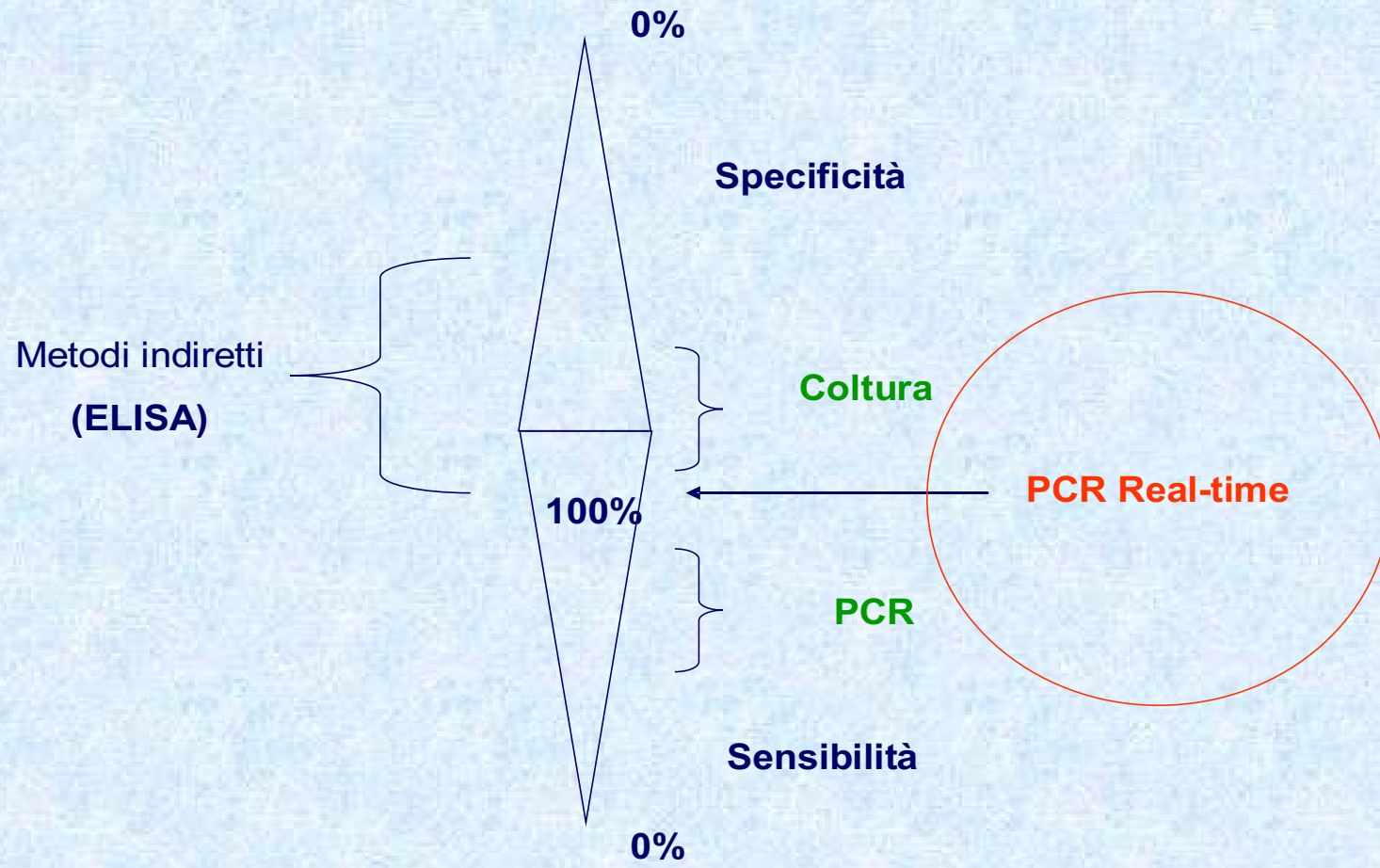


Rhodes *et al.*, Dis. Aquat. Org. 2004
Kaatari *et al.*, J. Fish Dis. 2006

Metodi colturali

- **A causa dei lunghi tempi di incubazione, la diagnosi richiede molto tempo.**
- **Inoltre, l'isolamento di *M. marinum* non sempre riesce a causa delle temperature (37 °C) comunemente usate nei laboratori di clinica umana.**

Metodi diagnostici di laboratorio



Sviluppo di un esame con la PCR Real-time

- Tempo di reazione della PCR molto rapido (da circa 30 minuti ad 1 ora)
- Quantitativa
- Identificazione/discriminazione simultanea di specie diverse
- Possono essere evidenziati organismi non isolabili
- Molto sensibile (10 – 50 copie di DNA)



M. marinum

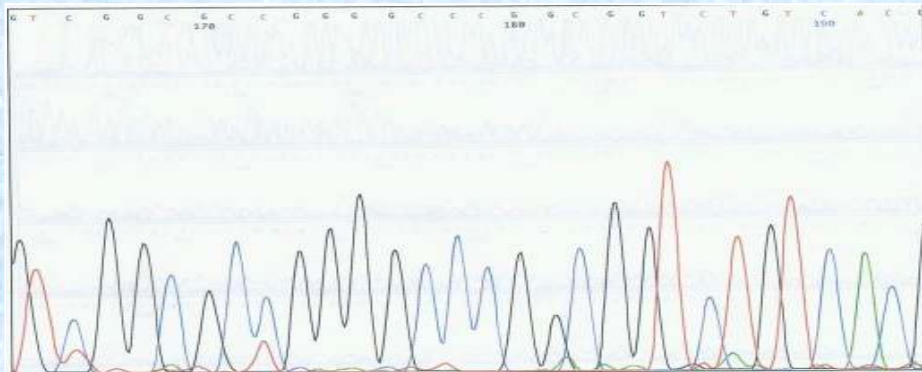
M. ulcerans

M. shottsii

M. pseudoshottsii



Genoma di *Mycobacterium marinum*



(Sanger Institut)

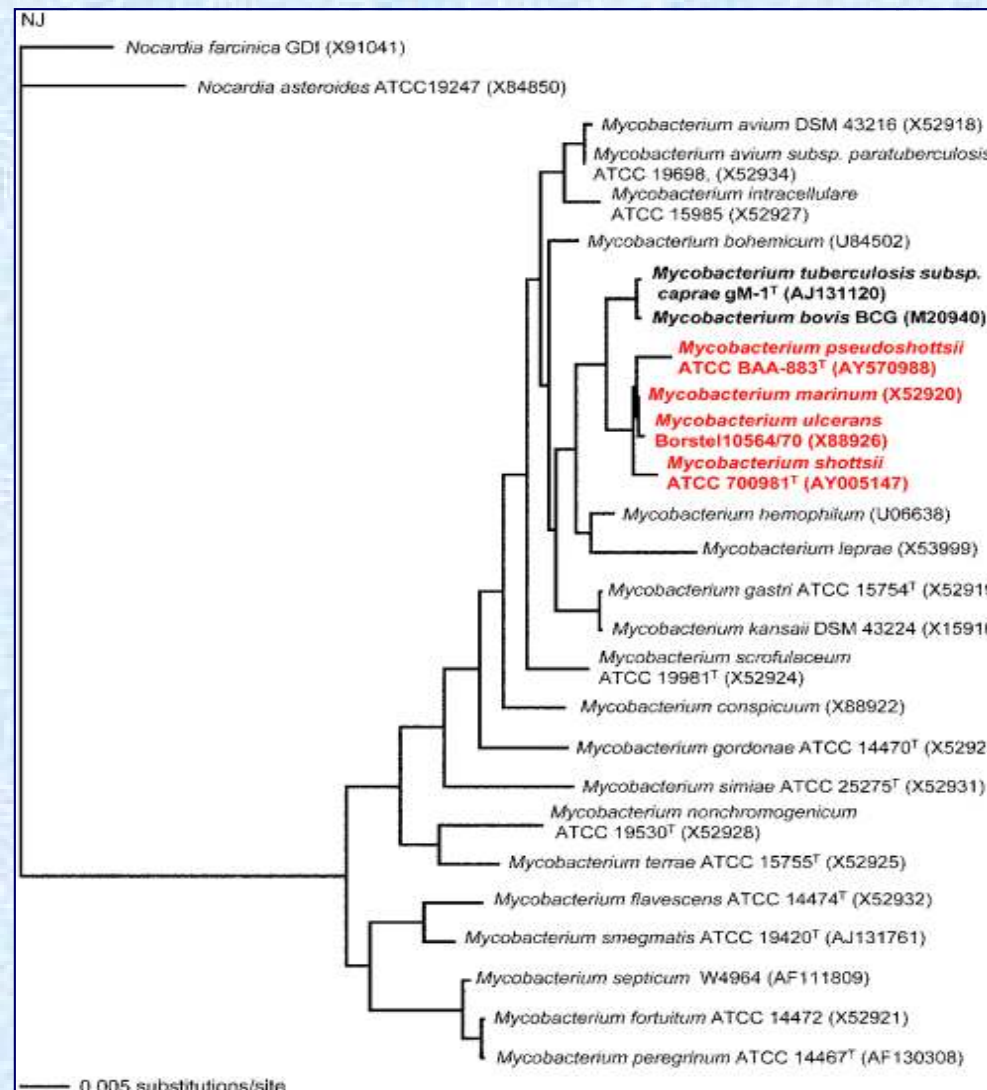
E' 6,636,827 bp in lunghezza

alta percentuale di contenuto G+C : 65.73 %

**Attualmente in DNA data bank (GenBank) sono depositate 123
sequenze corrispondenti a 43 differenti geni.**

(10/10/2006)

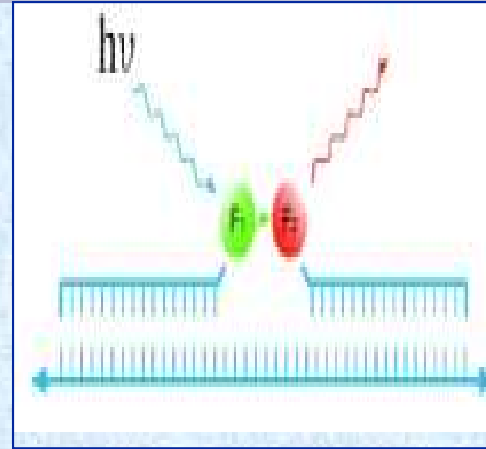
Correlazione filogenetica del gene 16S rRNA





LightCycler
Reader

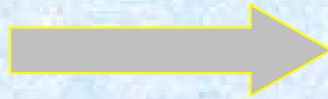
Riassumendo



- La PCR Real-time con sonde FRET è capace di riconoscere e quantificare *M. marinum* in campioni ittici.
- Con le sonde FRET è possibile ottenere una buona discriminazione con le altre specie correlate di *Mycobacterium*.
- La sensibilità della PCR è di 10 copie di DNA.
- La specificità è prossima al 100%.
- Il range di quantificazione lineare è tra 10 e 10⁵.
- Rene e branchie sono gli organi con il miglior recupero di DNA batterico.

Analisi su campo

410 branzini



5 Israele
380+20 Italia
5 Grecia

410 *Dicentrarchus labrax*

3 *Crenimugil crenilabis*

Milza – Rene – Branchie



culture



Real-time PCR

LightCycler
480

N° Campioni	Specie ittica	Terreno di isolamento	Alcol- acido resistenti	Presenza <i>M. marinum</i>
41	<i>S. aurata</i>	BHI, MID	-	Negativo
37	<i>D. labrax</i>	BHI, MID	+(1)	Positivo (1)
12	<i>D. puntazzo</i>	BHI, MID	-	Negativo
7	<i>A. regius</i>	BHI, MID	+(1)	Negativo
10	<i>M. cephalus</i>	BHI, MID	-	Negativo
1	<i>L. ramada</i>	BHI, MID	-	Negativo
1	<i>Th. alalunga</i>	BHI, MID	-	Negativo
1	<i>A. boyeri</i>	BHI, MID	-	Negativo
7	<i>C. gigas</i>	BHI, MID	-	Negativo
1	<i>T. decussatus</i>	BHI, MID	-	Negativo

110



c. 1.500 pesci + 500 molluschi

N° Campioni	Specie ittica	Terreno di isolamento	Alcol- acido resistenti	Presenza <i>M. marinum</i>
11	Anguilla	TSA, MID	-	Negativo
2	Carpa	TSA, MID	-	Negativo
3	Pesce-gatto	TSA, MID	-	Negativo
1	Carpa koi	TSA, MID		Negativo
2	Gambusia	TSA, MID	-	Negativo
7	Guppy	TSA, MID	-	Negativo
2	Portaspada	TSA, MID	-	Negativo
3	Telescopico	TSA, MID	+(1)	Negativo
3	Rosso bicolor	TSA, MID	-	Negativo
3	Ciclidi	TSA, MID	-	Negativo

37



c. 600 pesci

Patogeno	Via di infezione*	Categoria a rischio
<i>Vibrio spp.</i>	A, L	consumatore
<i>Aeromonas hydrophila</i>	L	operatore + bagnante
<i>Edwardsiella tarda</i>	L	bagnante (+ H ₂ O bere)
<i>Streptococcus iniae</i>	L	consumatore + operat.
<i>Mycobacterium spp.</i>	L, (A)	operatore + immunod.

*) A, Alimentare, da consumo di prodotti crudi o poco cotti;
L, Lesioni, da manipolazione del prodotto o dall'ambiente.

Conclusioni

- È importante sospettare o riconoscere l'eventuale presenza di potenziali patogeni per la salute umana nei prodotti ittici.
- Non bisogna tuttavia fare dell'allarmismo, mai utile né al produttore né al consumatore.



Fish Disease and Aquaculture

Center

IZS of Sardinia

State Veterinary Institute

Oristano

Staff

Dr. Giulia Angelucci

Dr. Alessandra Fenza

Fulvio Salati



*Dipartimento di Chirurgia e
Scienze*

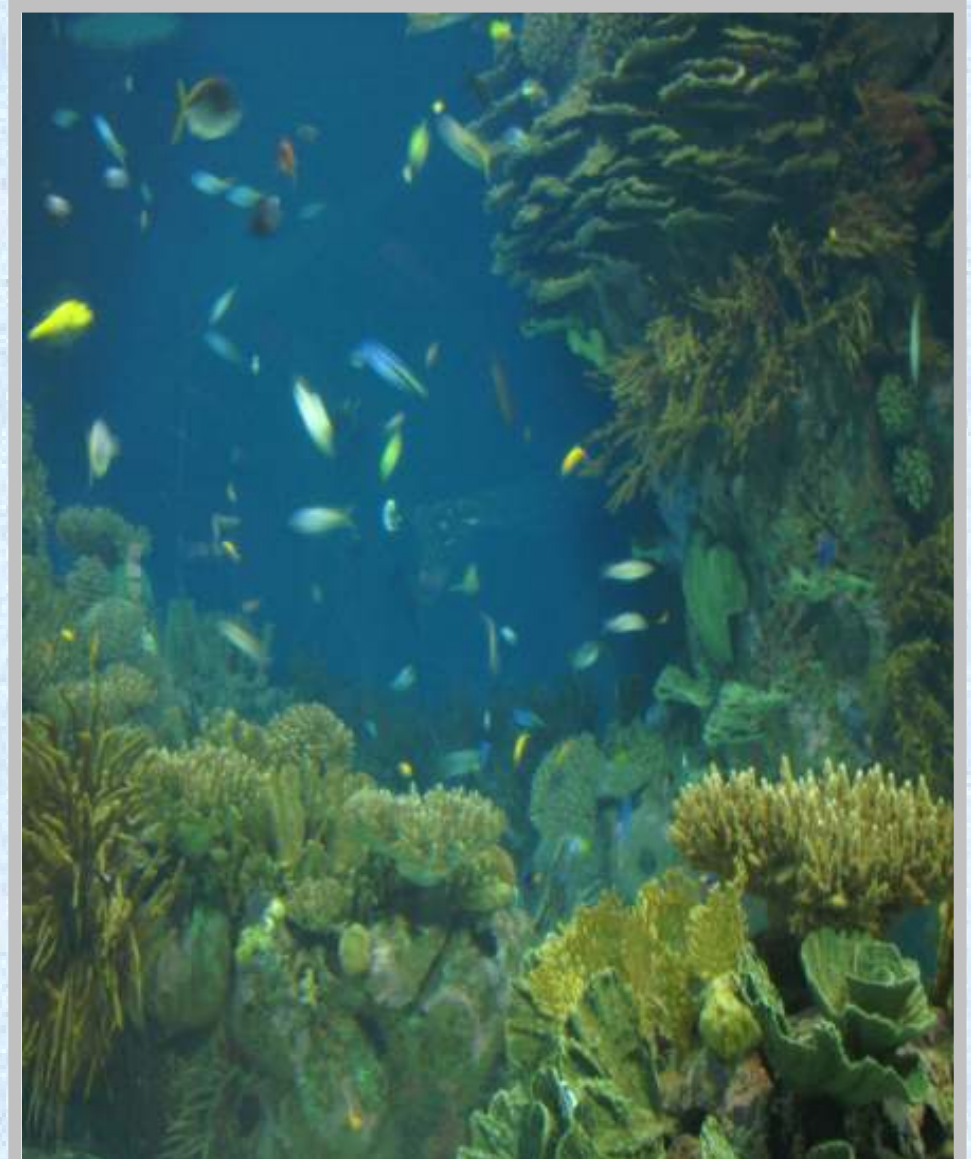
*Servizio Sequenziamento DNA
Università degli Studi di Cagliari*

Cagliari

Dr. Germano Orrù

Dr. Mauro Meloni

Dr. Valeria Braina





Grazie per l'attenzione!

