



Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

**L' ATTIVITÀ DI RICERCA CORRENTE PRESSO L'IZS LAZIO E TOSCANA:  
principali risultati e loro trasferibilità operativa  
Roma, 19 giugno**

Livelli d'infestazione da anisakidi in branzini e orate  
nell'area tirrenica  
e prospettive per la gestione del rischio mediante  
modalità produttive “*Anisakis free*”

Relatore: Daniele Castiglione, IZS Lazio e Toscana, sede di Pisa



# Introduzione

- Larve di nematodi anisakidi: principali rischi associati al consumo di pesce di mare crudo
- Nessuna area marittima può esserne considerata esente (EFSA, 2010)
- Reg CE 2074/2005: controllo visivo non distruttivo dei prodotti della pesca
- Possibile presenza in parti edibili dei pdp



→ Reg. (UE) 1276/2011 stabilisce che i pdp destinati ad essere consumati crudi o praticamente crudi, debbano essere sottoposti ad un trattamento termico (-20°C per almeno 24 ore oppure -35°C per almeno 15 ore) da parte dell'Operatore del Settore Alimentare (OSA)

Previste deroghe per *“prodotti della pesca derivati da piscicoltura, da colture di embrioni nutriti esclusivamente secondo una dieta priva di parassiti vivi e purché siano stati allevati esclusivamente in un ambiente privo di parassiti oppure **l'operatore del settore alimentare verifichi mediante procedure approvate dall'autorità competente che i prodotti della pesca non rappresentino un rischio sanitario relativamente alla presenza di parassiti vivi**”*.

Questa deroga è già prevista per il salmone atlantico e la trota iridea allevati in UK e Norvegia e l'halibut allevato in UK.





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

# Introduzione

Orata e spigola: specie più commercializzate in **Unione Europea**

- Allevamenti: situati soprattutto nel Bacino Mediterraneo
- Metodiche di allevamento: soprattutto intensivi in gabbie *off-shore*
- Principali paesi produttori: Grecia e Spagna



**Italia:** principale paese importatore

- Specie marine più importanti allevate in Italia
- Produzione: concentrata in Lazio e Toscana
- 30.000 tonnellate vendute annualmente





# Obiettivi

1°

- Valutare le potenziali fonti di infestazione da nematodi anisakidi durante i cicli di produzione di uno stabilimento di maricoltura situato nel Golfo di Follonica (Grosseto)

2°

- Valutare, attraverso la metodica digestiva, la prevalenza e l'intensità di infestazione nei branzini e nelle orate, sia in esemplari allevati che in esemplari catturati a largo del medesimo stabilimento

3°

- Valutare la possibilità di estendere la deroga al trattamento preventivo di congelamento a branzini e orate allevate nell'area marittima presa in esame (37.1.3)



# Materiali e metodi

## Analisi esemplari selvatici

- 40 orate e 47 spigole sono state analizzate tramite ispezione visiva e digestione cloro-peptica.
- Tutti i parassiti raccolti sono stati sottoposti ad analisi morfologica e molecolare mediante l'amplificazione di un frammento della subunità 2 del citocromo ossidasi (cox2) e della della regione ITS

## Analisi rischio in allevamento

- Analisi delle caratteristiche strutturali e ambientali di un allevamento situato nella zona FAO 37.1.3
- Analisi delle procedure del piano di autocontrollo atte a prevenire infestazioni da *Anisakis* sp.
- Valutazione dei risultati dell'esame parassitologico visivo condotto dagli OSA nell'ambito del piano di autocontrollo (POI) sul 5% degli esemplari totali con taglia commerciale







## Risultati analisi esemplari selvatici

**Table 2**

Results of the parasitological examination (viscera and muscle) of gilthead seabream (*Sparus aurata*) and European seabass (*Dicentrarchus labrax*). P%: prevalence expressed in percentage; CI: confidence interval; MA: mean abundance; MI: mean intensity.

	Gilthead seabream (n = 40)						European seabass (n = 47)					
	N positive	P% (95% CI)	MA	MI	N larvae viscera	N larvae muscle	N positive	P% (95% CI)	MA	MI	N larvae viscera	N larvae muscle
<i>Anisakis</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Contracaecum rudolphii</i> A	1	2.5% (0-7.3)	0.17	7	5	2	6	12.7% (3.3-22.3)	0.36	1.17	17	0
<i>Hysterothylacium</i> sp.	1	2.5% (0-7.3)	0.02	1	1	0	0	0	0	0	0	0

### 0 *Anisakis* sp.

1 Orata infestata da 7 *Contracaecum rudolphii* A. (2 nei belly flap), specie dalla dubbia patogenicità per l'uomo

1 Orata infestata da *Hysterothylacium* sp. (visceri), specie ritenuta non zoonotica

6 spigole infestate da 17 larve a livello viscerale identificate morfologicamente come *Contracaecum rudolphii* A

**Table 1**


Epidemiological studies on wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and European seabass (*Dicentrarchus labrax*) available in the literature (2000-2020). V: viscera; M: muscle; P%: prevalence.

References	Geographical area	N° examined specimens and species	Weight	Examined tissue	Analytical method	Parasite identification	Ascaridoid species (n of larvae, when available)	V P%	M P%
Culurgioni et al. (2011a)	Southern coast of Sardinia (3 lagoons) (FAO area 37.1.3)	75 gilthead seabream	81.5-283 g	V	Digestion Standard parasitological technique	Morphology	<i>Hysterothylacium</i> spp. <i>Contracaecum rudolphii</i>	5.9 35.3-80	-
Culurgioni et al. (2011b)	Southern coast of Sardinia (3 lagoons)	6 European seabass	-	V and M (belly flaps)	Visual inspection, dissection under	Morphology PCR (cox2)	<i>A. pegreffii</i> (41)	50	-
Salati et al. (2013)	Sardinia (FAO area 37.1.3)	10 gilthead seabream	-	V and M	Visual inspection Digestion	Morphology PCR (12S)	<i>Contracaecum</i> sp.	20	-
Culurgioni et al. (2014)	Southern coast of Sardinia (FAO area 37.1.3)	56 European seabass	-	V	Visual inspection	Morphology PCR (cox2)	<i>Contracaecum rudolphii</i>	83.9; 95.1 ± 28.8	-
Bernardi et al. (2009)	North East Atlantic (FAO area 27)	561 European seabass	< 2 kg: 334 2-3 kg: 180 > 3 kg: 47	V	Visual inspection	-	<i>Anisakidae</i>	< 2 kg: 65.3 2-3 kg: 85.00 > 3 kg: 89.4	-



## 1° Risultati analisi rischio in allevamento

- **Localizzazione geografica e caratteristiche strutturali dell' impianto:** zona FAO 37.1.3 (Mar Tirreno settentrionale), 22 gabbie circolari galleggianti;
- **Contesto ambientale:** presenza sporadica di cetacei, frequente di uccelli ittiofagi, sporadica segnalazione all'interno delle gabbie di boghe , sugarelli e sardine;
- **Flusso produttivo:** dalla semina di avannotti allevati di 3-4 g al raggiungimento della taglia commerciale media di 400 g.

- 
1. Attraverso la cattura di novellame selvatico per la successiva crescita in allevamento
  2. Attraverso l'uso di mangimi contaminati da larve vive di *Anisakis* sp.
  3. Attraverso spigole e orate selvatiche penetrate accidentalmente
  4. Attraverso l'ingestione di ospiti infetti che sono penetrati nelle gabbie





## 2° Risultati analisi rischio in allevamento

**Table 1**

Summary of the likelihood and uncertainty for each pathway of introduction of ascaridoid nematodes into the investigated European seabass and gilthead seabream farm, with definition of the qualitative terms used to describe the likelihoods and the related levels of uncertainty (modified from [Crota et al., 2016](#)).

	Levels	Definition	Introduction pathways			
			1 Capture of wild juveniles for subsequent growth on the farm	2 Use of feed contaminated with viable larvae of <i>Anisakis</i> spp.	3 Wild European seabass and gilthead seabream accidentally penetrated into the cages	4 Ingestion of infected hosts that have entered the cages
<b>Likelihood</b>	High (H)	Expected to occur	N	N	N	EL-N
	Low (L)	Unlikely to occur				
	Moderate (M)	Occurrence less than 50% probability				
	Very Low (VL)	Rarely occur				
	Extremely Low (EL)	Very rarely occur				
	Negligible (N)	Chance of occurrence so small that can be ignored				
<b>Uncertainty</b>	Low (L)	Estimation strongly supported by data-evidence Agreement by different authors	L	L	L	M
	Medium (M)	Estimation supported by few or incomplete data. Some authors report slightly different conclusions				
	High (H)	Estimation supported only by scarce data or based on hypotheses not yet proved. Strong disagreement from different authors				

➔ 1° Semina Avannotti allevati

➔ 2° Alimentazione con mangime pellettato

DC3

➔ 3° Monitoraggio e riparazione reti, basse prevalenze in esemplari selvatici mediterranei

➔ 4° Monitoraggio densità, alimentazione, salute e indice di conversione dei pesci

DC2

➔ Analisi (2016-2020) condotta su 310.110 esemplari = 0 *Anisakis* sp.





## Diapositiva 8

---

**DC1**      Daniele Castiglione; 17/06/2021

**DC2**      Daniele Castiglione; 17/06/2021

**DC3**      Daniele Castiglione; 17/06/2021



## Impatto e trasferibilità operativa

Implementazioni al piano di autocontrollo per ottenere e mantenere la deroga al congelamento preventivo:

- esame parassitologico degli esemplari allevati condotto da personale qualificato su un campione statisticamente significativo
- raccolta sistematica, registrazione ed esame parassitologico degli esemplari allevati trovati morti e degli esemplari selvatici di altre specie ittiche entrate nelle gabbie

➔ Questo approccio può essere adattato ad altri allevamenti regolando la dimensione del campione in base al volume di produzione e alla categorizzazione del rischio





# Conclusioni

1°

- Rischio di contaminazione di esemplari allevati negli stabilimenti siti nell'area marittima presa in esame basso o trascurabile

2°

- Prevalenza di *Anisakis* sp. in esemplari selvatici (FAO 37.1.3) e allevati nello stabilimento nulla

3°

- Possibilità di estendere la deroga al trattamento preventivo di congelamento ad allevamenti di branzino e orata che soddisfino i requisiti del Reg. (UE) 1276/2011 mediante l'adozione dell'approccio sviluppato nel progetto → nuova opportunità di mercato per l'acquacoltura italiana





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

# Conclusioni



Ascaridoid nematode larvae in wild gilthead seabream (*Sparus aurata*) and European seabass (*Dicentrarchus labrax*) caught in the Tyrrhenian Sea (Western Mediterranean Sea): a contribute towards the parasitological risk assessment on two commercially important fish species

L. Guardone<sup>a,1</sup>, F. Susini<sup>b,1</sup>, D. Castiglione<sup>a</sup>, E. Ricci<sup>b</sup>, C. Corradini<sup>c</sup>, A. Guidi<sup>a</sup>, A. Armani<sup>a,\*</sup>



A case study on farmed European seabass and gilthead seabream in central Italy: The negligible parasitological risk of nematode larvae paves the way for the freezing derogation

Daniele Castiglione<sup>a,b,1</sup>, Lisa Guardone<sup>b,1</sup>, Francesca Susini<sup>a</sup>, Federica Alimonti<sup>a</sup>, Valeria Paternoster<sup>c</sup>, Enrica Ricci<sup>a</sup>, Daniele Nucera<sup>d</sup>, Andrea Armani<sup>b,\*</sup>

