



**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MESSINA
DIPARTIMENTO DI SCIENZE VETERINARIE**

Scuola di Dottorato in Scienze Veterinarie

**XXXV CICLO DI DOTTORATO DI RICERCA
IN SCIENZE VETERINARIE (SSD: VET-04)**

**Curriculum Sanità Pubblica Veterinaria
e Sicurezza Alimentare**

*Ruolo dei mercati ittici quali osservatori epidemiologici per il
monitoraggio di malattie zoonosiche, infettive, parassitarie,
neoplastiche e tecnopatie a tutela del consumatore, della qualità dei
prodotti, della salute animale e dell'ambiente*

Candidato:
Dott. Ivan Corti

Coordinatore:
ch.ma Prof.ssa Rosaria Laurà

Tutor:
Prof. Antonio Panebianco

Co-tutor:
Prof. Fabio Marino

Anno Accademico 2021-2022

Sommario

PARTE GENERALE

1.	Introduzione: il mercato ittico globale.....	5
2.	I mercati ittici in Italia	8
3.	Il mercato ittico di Milano.....	9
3.1.	Provenienze.....	11
4.	Controlli ufficiali nei mercati ittici.....	12
5.	Il controllo ufficiale dei prodotti della pesca, i compiti dell'OSA nel contesto del quadro normativo.....	12
5.1	Istamina.....	15
5.2	Parassiti.....	16
5.3	Residui e contaminanti	19
5.4	Tossine nocive per la salute umana	20
5.5	Caratteri organolettici.....	21
5.6	Indicatori di freschezza	22
5.7	Criteri microbiologici.....	22
6.	Valutazione sensoriale della freschezza	23
6.1	Lo "Schema Artioli – Ciani"	23
6.2	Metodo ufficiale di valutazione della freschezza: il Reg. (CEE) 2406/96	27
6.3	Il Quality Index Method: QIM	29
7.	Parassiti visibili nelle specie dulciacquicole e anadrome.....	33
7.1.	Nematodi	33
7.1.1.	Anisakidi.....	33
7.1.2.	<i>Eustrongylides</i>	36
7.2.	Cestodi	38
7.2.1.	<i>Triaenophorus</i>	38
7.2.2.	<i>Botriocephalum</i> e <i>Diphyllobotrium latum</i>	40

7.2.3	<i>Caryophyllidea</i>	40
PARTE SPERIMENTALE		
1.	SCOPO DELLO STUDIO.....	43
2.	MATERIALI E METODI.....	43
2.1	Attività di campionamento	43
2.2	Controllo, valutazione e necropsia	44
2.2.1	Esami istopatologici	46
2.2.2	Esami batteriologici	47
2.2.3	Identificazione parassitologica.....	47
2.3	Analisi statistica.....	49
3.	RISULTATI	50
3.1	Riscontri di specie, stato di freschezza	50
3.2.	Riconoscimento e conferma di specie.....	53
3.3	Provenienze	54
3.4	Attrezzi di pesca.....	59
3.5	Parassiti.....	62
3.6	Alterazioni fisiopatologiche	92
3.7	Tecnopatie (riscontri cutanei).....	95
3.8	Neoplasie	98
4	DISCUSSIONE.....	98
5	CONCLUSIONI.....	111
6	BIBLIOGRAFIA.....	113
7	SITOGRAFIA.....	138

PARTE GENERALE

1. Introduzione: il mercato ittico globale

Le risorse ittiche rivestono da sempre un ruolo di primaria importanza nell'ambito della produzione di alimenti. I consumatori di tutto il mondo apprezzano notevolmente questa tipologia di prodotti per le peculiarità che li contraddistinguono, sia per l'elevato livello nutrizionale che per le qualità organolettiche. Il riconoscimento del valore di questi prodotti ha cambiato le abitudini alimentari, passando da un consumo prevalentemente tradizionale, dovuto principalmente alla facilità di approvvigionamento, ad un consumo più ampio che va di pari passo con lo svilupparsi di nuove mode, nuove tecniche di conservazione e con la conoscenza degli effetti benefici e salutistici che vengono normalmente attribuiti al consumo di pesce (Giosuè, 2022). Oggi è ritenuto particolarmente indicato per alcune categorie di consumatori (come neonati, bambini, persone affette da obesità, a rischio infarto ed anziani).

Molte popolazioni hanno come primo apporto proteico i prodotti ittici che, oltre a fornire una grande varietà di nutrienti essenziali e di proteine ad alto valore biologico, hanno un effetto protettivo nel ridurre la mortalità per malattie cardiache nella popolazione adulta (specie per pesci grassi con un alto valore di omega-3).

Il settore della pesca e dell'acquacoltura nel secolo corrente ha apportato un profondo contributo alla "global food security" (Boyd, 2022).

La domanda di prodotti ittici è in costante aumento; l'acquacoltura riveste un ruolo di crescente rilievo. I dati riguardanti la produzione mondiale di acquacoltura e pesca sono passati da 19 milioni di tonnellate nel 1950 a 179 milioni di tonnellate nel 2018.

Il consumo medio pro capite nel mondo è passato da 9 kg nel 1961 a 20.2 kg nel 2020 (FAO 2022).

Per quanto riguarda il consumo dei prodotti della pesca e dell'acquacoltura riferiti alla UE, i dati contenuti nel documento "The EU fish market" pubblicato dall'European Market Observatory for Fisheries and Aquaculture Products (EUMOFA) mostrano come la media del consumo europeo pro-capite nell'anno 2020 si attesti a 23.97 kg; l'Italia occupa il sesto posto per consumo, dopo Portogallo-Spagna-Danimarca-Francia-Lussemburgo.

Un dato interessante è come, già nel 1950, un'indagine dell'Alto Commissariato dell'alimentazione italiano evidenziasse grandi differenze territoriali nel consumo di pesce pro-capite fra Bologna (2.6 kg) o Milano (3.2 kg) e Bari (23.7 kg) o Palermo (20.2 kg).

L'aumento progressivo della richiesta di prodotti ittici dovuto al cambio delle abitudini alimentari ed al forte incremento demografico mondiale ha avuto come conseguenza un aumento dell'acquacoltura per riuscire a soddisfare la domanda. Questo è dimostrato anche dai dati FAO, dai quali si evince che dagli anni Novanta la pesca è passata dall'88.9 a 90.3 milioni di tonnellate, mentre l'acquacoltura è passata da 21.8 a 87.5 milioni di tonnellate.

In termini assoluti, è interessante sottolineare come l'utilizzo dei prodotti ittici per uso non-food sia diminuito dagli anni Novanta (29.1 milioni di tonnellate) ad oggi (20.4 milioni di tonnellate nel 2020).

Inoltre, una proiezione presentata dalla FAO per il periodo 2020-2030 prevede un'ulteriore crescita del 14% di produzione di prodotti ittici, aggiungendo altri 24 milioni di tonnellate in termini assoluti. L'Unione Europea dovrebbe incrementare lo sforzo di pesca del 10.5% ed avere un aumento della produzione di acquacoltura del 14.9%; questi dati sono inferiori a quelli di tutte le altre aree/continenti considerati. La stima percentuale di crescita maggiore è riferita dell'acquacoltura nel continente americano: essa dovrebbe crescere del 29.5%.

L'Unione Europea oggi riesce a mantenere un livello di consumo di prodotti ittici elevato grazie unicamente alle importazioni da altri Stati del mondo. Per autosufficienza si intende la capacità degli Stati membri della UE di soddisfare la domanda tramite la propria produzione e viene calcolata come il rapporto fra produzione interna e consumo interno. Nel 2019 l'autosufficienza dell'UE è stata di solo il 41.2%. Nel periodo fra il 2010 ed il 2019 l'andamento dell'autosufficienza è stato decrescente. Nel 2020 i principali Paesi extra-UE di importazione sono stati Norvegia (27%), Cina e Regno Unito (7%), Marocco e Islanda (5%), Ecuador e Stati Uniti d'America (4%), Vietnam e Perù (3%). La situazione italiana riguardante il volume delle importazioni extra-UE la posiziona al 7° posto dopo Spagna, Svezia, Danimarca, Paesi Bassi, Francia, Germania.

Le 4 specie più consumate nell'UE sono: i tonni (13%), il salmone (10%), il merluzzo nordico (9%), il pollack d'Alaska (7%).

Per quanto concerne gli sbarchi nell'UE (primo Stato membro di sbarco a terra dei prodotti ittici), facendo una classificazione per specie a volume nel 2019 il primo posto tra i pesci classificati come specie commerciali più importanti è occupato dall'aringa, seguita da spratto, melù, sgombro, tonnetto striato, sardina, nasello, acciuga. Tra il 2018 ed il 2019 il crollo degli sbarchi di cicerello (specie non considerata principale) per uso industriale in Danimarca, passando da 402.000 tonnellate nel 2016 a 122.000 tonnellate nel 2019, ha contribuito ad una riduzione degli sbarchi. Nel 2019 i volumi sbarcati più elevati si sono avuti in Danimarca, grazie alla pesca dello spratto e dell'aringa, e in Spagna, grazie alla pesca di tonnetto striato, tonno pinna gialla, nasello. Nel 2019 l'Italia si attesta su un valore di 180.000 tonnellate di pesce sbarcato a fronte delle 863.000 tonnellate della Danimarca e delle 785.000 tonnellate della Spagna, rispettivamente il 21% ed il 19% del totale degli sbarchi UE.

Per quanto riguarda l'acquacoltura comprensiva di tutti i prodotti della pesca nell'UE, dal 2010 al 2019 è aumentata dell'11%, mentre i suoi valori in termini reali è cresciuto del 40%, pari ad un aumento in valore assoluto di 1.43 miliardi di euro. L'EUMOFA individua come cause della forte crescita del valore una maggiore produzione di specie di alto valore commerciale come il salmone, la spigola ed il tonno rosso, ed il contemporaneo aumento dei prezzi di vendita di alcune specie come salmone, capesante, ostriche e vongole. Le dinamiche dell'aumento dei prezzi hanno coinvolto direttamente l'aumento della domanda, l'introduzione di prodotti di maggiore qualità o diversa qualifica (prodotti biologici) e la riduzione dell'offerta causata da mortalità più elevate (ad esempio ostriche).

Nel 2019, i molluschi bivalvi rappresentavano da soli il 43% della produzione di acquacoltura nell'UE; un buon contributo era portato dalla produzione di cozze in

Spagna e di ostriche in Francia. Il salmone rappresentava il 15% della produzione, la trota il 14%, l'orata il 7%, la spigola e la carpa il 6%.

I primi 5 Paesi nell'UE produttori di specie d'acquacoltura a volume nel 2019 sono: Spagna (22%), Regno Unito (16%), Francia (14%), Italia (11%) e Grecia (9%). Le maggiori crescite si sono verificate nel 2015-2019 nel Regno Unito (+18%) e in Italia (+8%). Il nostro Paese ricopre invece la quinta posizione per quanto riguarda il valore della produzione acquicola.

Le statistiche considerate sono state, comunque, influenzate dalla situazione pandemica da Covid-19 dichiarate nel marzo 2020 dalla World Health Organization (WHO). La situazione è ancora attualmente in costante evoluzione, anche se le campagne di vaccinazione per il contenimento ed il controllo della pandemia hanno contribuito e stanno tuttora contribuendo a mitigare gli effetti sul commercio e l'economia mondiali, anche nel settore dei prodotti ittici.

2. I mercati ittici in Italia

I mercati ittici rientrano fra gli stabilimenti soggetti a riconoscimento ai sensi del Reg. (CE) 853/2004; il riconoscimento, assegnato al mercato ittico dal Ministero della Salute con il tramite dell'Autorità Competente Locale, riguarda l'intera struttura; alle singole unità e gruppi di unità commercialmente e fisicamente separate che lo compongono possono essere assegnati numeri di riconoscimento secondari (Linee guida in materia di igiene dei prodotti della pesca" della Conferenza permanente per i rapporti tra lo Stato, le Regioni e le Province Autonome di Trento e Bolzano del 05/11/2015 (195/CSR)).

In Italia, i mercati ittici possono essere suddivisi in mercati ittici di sbarco, che si trovano in prossimità dei porti lungo le coste, e mercati ittici interni che commercializzano ad altri Operatori del Settore Alimentare (OSA): fra questi, i più ragguardevoli in termini di volumi commercializzati, dimensioni, bacino di utenza sono i mercati ittici di Roma, Milano e Torino.

I mercati ittici sono solitamente collocati in luoghi "strategici" ed attrezzati in modo da garantire centri integrati di distribuzione all'ingrosso, e ricoprono un ruolo essenziale sotto diversi aspetti: uno di questi è la corretta formazione dei prezzi all'ingrosso, le quotazioni dei prodotti ittici raggiunte in molti casi sono oggetto di rilevazione ISTAT. Hanno inoltre un ruolo di valorizzazione della produzione locale; la quantità e la varietà di offerta permettono un accrescimento della qualità dei prodotti senza che la sicurezza alimentare sia trascurata. Rivestono poi un ruolo di importanza per quanto riguarda l'internazionalizzazione, anche attraverso quote di importazioni provenienti da tutto il mondo. Molti mercati ittici sono coinvolti nello sviluppo delle esportazioni delle produzioni, sia in ambito comunitario che extra-UE. L'organizzazione dei mercati ittici all'ingrosso è negli anni mutata per offrire risposte alla odierna distribuzione e alle nuove utenze, organizzandosi con la creazione di spazi tecnologicamente attrezzati destinati sia alla lavorazione/trasformazione dei prodotti che alla loro conservazione.

3. Il mercato ittico di Milano

Il mercato ittico di Milano è uno fra i più rappresentativi mercati ittici in Italia e in Europa a causa del numero di unità che lo compongono, dei volumi e delle specie commercializzate che vi transitano, del bacino di utenza. Oggi, in questa struttura sono commercializzate sia specie dulciacquicole che marine, di allevamento e di pesca, anche vive, approvvigionate fresche (70% dei volumi) e congelate (30%) da produttori primari siti in Italia e all'estero. Inoltre, presso il mercato di Milano è presente anche una importante realtà di esportazione di prodotti ittici di qualità verso Paesi Terzi, che richiedono requisiti specifici e garanzie che vengono assicurate dall'OSA e dal controllo ufficiale veterinario.

Presso il mercato ittico di Milano sono operativi all'attivo 26 operatori e ulteriori 16 stabilimenti riconosciuti ai sensi del Reg.(CE) 853/2004: questi svolgono attività di cernita, scongelamento, lavorazione, essiccazione, salatura, sfilettatura, affumicatura. Il mercato ittico di Milano serve prevalentemente grossisti afferenti all'area

Metropolitana di Milano, alla Lombardia, a regioni del Piemonte e dell'Emilia Romagna, alla Svizzera (specialmente Canton Ticino).

La sorveglianza sanitaria e gestionale delle attività è affidata al servizio veterinario dell'Agenzia di Tutela della Salute (ATS) Città Metropolitana di Milano e a un presidio veterinario che esercita l'attività nell'ambito del suo autocontrollo, direttamente gestito dalla società che per conto del Comune di Milano gestisce i Mercati agroalimentari all'ingrosso della città (SO.GE.MI. S.p.A.).

La commercializzazione di specie marine di pesca, a differenza delle dulciacquicole, provenienti unicamente da zone di pesca più vicine come i laghi del Nord Italia, è iniziata a partire dal dopoguerra con l'avvento del trasporto di tipo refrigerato che ha permesso l'approvvigionamento di referenze da aree non limitrofe. La vicinanza alla stazione Centrale di Milano nella storica struttura di via Sammartini permetteva anche il trasporto ferroviario. La collocazione del mercato di Milano vicino alle principali arterie autostradali e agli scali aeroportuali di Milano Malpensa e di Bergamo Orio al Serio (dotati di Posti di Controllo Frontalieri, PCF) garantisce un approvvigionamento costante e non fortemente condizionato dai quantitativi pescati nelle diverse marinerie, che possono essere influenzati direttamente dagli effetti del fermo-pesca (effettuati a fini conservazionistici delle specie ittiche) e dalle condizioni meteorologiche.



Fig.1: Mercato Ittico di Milano durante le fasi di contrattazione

3.1. Provenienze

Come anticipato nel paragrafo precedente, i siti di approvvigionamento del pesce commercializzato presso il mercato ittico di Milano sono localizzati a livello nazionale (30% dei volumi), comunitario ed extracomunitario (70%).

- Provenienza nazionale. A livello nazionale, i prodotti della pesca provengono via gomma prevalentemente dalle seguenti aree: alto Mar Adriatico (Trieste, Venezia, Rovigo, Goro, Chioggia, Contarina, Rimini, Cattolica); medio Mar Adriatico (San Benedetto, Ancona, Pescara, Pesaro); basso Mar Adriatico (Bari, Manfredonia); mar Tirreno (Livorno, Latina, Porto Santo Stefano, Viareggio) e via aerea da Sicilia e Sardegna.

- Provenienza comunitaria. Le principali provenienze europee sono il mar Mediterraneo e l'Oceano Atlantico: Grecia, Francia, Spagna, Danimarca, Olanda, Belgio, Irlanda sono i principali Paesi esportatori.

- Provenienza extra-comunitaria. Il trasporto avviene via aerea attraverso gli scali italiani (PCF) di Milano Malpensa, Roma Fiumicino, Venezia o gli hub esteri come quello di Rotterdam e Barcellona: le origini principali sono Tunisia, Turchia, Marocco, Canada e USA, Sri Lanka, Maldive, Mauritius, Yemen, Oman, Sud Africa, Giappone, Australia.

Il pesce d'acqua dolce proviene in prevalenza dal Nord Europa (Danimarca, Estonia, Svezia), da lagune a bassa salinità nel Mar Baltico, dall'Italia (laghi Bolsena e Trasimeno, delta del Po, laghi del Nord Italia come il lago di Garda), dalla Spagna. Per le specie anadrome, le aree di provenienza sono dislocate in tutta Italia: principalmente Goro e Manfredonia, laguna di Venezia (Mar Adriatico), Viareggio, Porto Santo Stefano, Civitavecchia (Mar Tirreno).

4. Controlli ufficiali nei mercati ittici

I mercati ittici vengono inquadrati come Operatori del Settore Alimentare (OSA).

Negli anni, l'evoluzione normativa ha portato ad un cambio nell'attribuzione delle responsabilità in materia di sicurezza alimentare. L'OSA è, a tutti gli effetti, responsabile di quello che riceve, trasforma, trasporta e somministra. La legge attribuisce al controllo ufficiale il compito di verificare le procedure basate sui principi HACCP e la loro applicazione da parte dell'OSA, attraverso un approccio basato sul rischio che tiene conto di vari elementi (ad esempio tipo di prodotto trattato, destinatari, tipologia di trasformazione, non conformità pregresse, gestione strutturale dello stabilimento...), oltre che di effettuare a campione verifiche di tipo organolettico, microbiologico, chimico sui prodotti finiti e sulle materie prime per confermare una adeguata ed appropriata gestione della sicurezza alimentare dei prodotti finiti da parte dell'OSA, in aggiunta a verifiche strumentali come la misurazione della temperatura di conservazione dei prodotti.

Per quanto riguarda la produzione post primaria dei prodotti della pesca, l'OSA deve fornire evidenza all'Autorità Competente (AC) che il sistema di gestione assicuri le dovute garanzie ai fini della sicurezza alimentare.

5. Il controllo ufficiale dei prodotti della pesca, i compiti dell'OSA nel contesto del quadro normativo

Date le peculiarità dei prodotti della pesca e dei molluschi bivalvi vivi, il Regolamento Comunitario 853/2004 e s.m.i. (All. III, Sez. VII e VIII) riconosce requisiti specifici, integrando quelli generali già fissati nel Reg. (CE) 852/2004.

I controlli ufficiali vengono svolti per adempiere a quanto il Reg. (UE) 2017/625 e segnatamente attraverso il Regolamento di esecuzione 627/2019 ha disposto dopo l'abrogazione del Reg. (CE) 854/2004 e del Reg. (CE) 882/2004.

L'emanazione del Decreto Legislativo numero 27 del 2/02/2021 individua il quadro giuridico in cui si devono organizzare le Autorità Competenti e gli operatori del settore alimentare. L'articolo 2 individua nel Ministero della Salute, le Regioni e

Province Autonome di Trento e Bolzano e nelle Aziende Sanitarie Locali nell'ambito delle rispettive competenze le Autorità Competenti designate a pianificare, programmare, eseguire, monitorare e rendicontare i controlli ufficiali e le altre attività ufficiali, comprendendo anche le azioni esecutive che sono previste dagli articoli 137 e 138 del Reg. (UE) 2017/625 riguardante tutti gli alimenti e la sicurezza alimentare.

In linea di principio il controllore ufficiale ha il compito di verificare quanto l'OSA ha messo in atto e come l'OSA sta applicando le legislazioni presenti sul territorio europeo specialmente per quanto riguarda la materia della sicurezza alimentare ma non solo. Una nuova enfasi viene attribuita ai controlli ufficiali con il nuovo Regolamento 625 del 2017 riguardante anche il commercio leale. Questo perché l'Unione Europea negli scorsi anni ha portato avanti un discorso di trasparenza del commercio: tutto questo può basarsi solo sul fatto che quanto venduto sia effettivamente quello oggetto dell'acquisto. I prodotti della pesca per loro natura e complessità da sempre si sono dimostrati, insieme ad altri settori come quelli del miele e dell'olio, particolarmente predisposti alla frode commerciale; tale attività illecita si configura come reato, che nel nostro Paese viene punito dal codice penale (515 C.P. e 516 C.P.). Vendere specie con un inferiore valore commerciale e attribuire loro una denominazione riferita ad una specie di maggior valore incidono direttamente sul prezzo ma ingannano il patto tra acquirente e venditore.

Prerogativa del medico veterinario incaricato del controllo ufficiale presso le unità territoriali è quella del riconoscimento di specie, che lungo tutta la filiera l'OSA deve assicurare: questa è una materia complessa ma indispensabile per potersi approcciare al controllo ufficiale nel campo ittico. Quest'attività viene svolta anche in coordinamento e/o supporto di altre Autorità Competenti nell'ambito della conservazione della risorsa ittica, quali Capitaneria di Porto e Carabinieri Forestali, Carabinieri del NAS, Guardia di Finanza, Polizia di Stato, Polizia Locale, Nucleo Repressione Frodi del MIPAAF. L'attività di riconoscimento delle specie ittiche rappresenta la base per effettuare controlli riguardanti le specie non commerciabili in quanto protette (di cui è vietata la pesca o in presenza di taglie minime di pesca),

velenose o soggette a particolari rischi sanitari come il rischio istamina e l'accumulo di ciguatera. Il veterinario ufficiale è anche incaricato dal Decreto Legislativo ad effettuare la richiesta di nuova denominazione commerciale di una specie provvisoria: la richiesta verrà poi inoltrata per una sua definitiva approvazione all'apposita Commissione stabilita a livello nazionale che aggiornerà l'elenco delle denominazioni commerciali ufficiale italiano.

Vista la sua complessità, il riconoscimento ittico è un compito affidato dalla legge al Veterinario Ufficiale, per il quale si rende necessaria una formazione di tipo specialistico che può aiutare il veterinario ufficiale ad espletare nel migliore dei modi la sua attività. L'Autorità Competente dovrà, durante i suoi controlli, verificare la capacità, da parte degli operatori del settore alimentare che intervengono lungo tutta la filiera, del riconoscimento di specie che si rende necessario per poter svolgere l'attività sia dal punto di vista sanitario che annonario.

Un utile documento che dettaglia le attività da svolgere a carico sia dell'operatore del settore alimentare che del controllo ufficiale sono le “Linee guida in materia di prodotti della pesca”, 195/CSR del 5/11/2015.

Il controllo ufficiale si pone l'obiettivo di verificare la corretta applicazione di quanto previsto dal sistema gestionale messo in atto dall'OSA per offrire le minime garanzie ai fini della sicurezza alimentare. Ogni OSA mette in atto procedure di verifica ed eventuali azioni correttive per la gestione di non conformità attraverso la creazione di un sistema di autocontrollo basato sui principi HACCP.

Nell'ambito dell'attività programmata di controllo ufficiale, l'Autorità Competente verifica che i prodotti della pesca in tutta la filiera rispettino i caratteri di freschezza; lo scopo di tale controllo è quello di verificare che l'OSA abbia ottemperato in maniera efficace ai controlli organolettici e alle procedure stabilite nel suo piano di autocontrollo come previsto dai Regolamenti comunitari (Reg. CEE 2406/96 e Reg. CE 853/2004).

5.1 Istamina

Un primo requisito specifico per i prodotti della pesca è quello di garantire che i limiti relativi all'istamina non vengano superati. Il Reg. (CE) 2073/2005 e s.m.i. individua alcune famiglie di teleostei che vengono considerati a rischio in ambito unionale, in quanto normalmente hanno un contenuto in istidina libera superiore rispetto ad altre specie. Tali famiglie sono: *Scomberidae*, *Scomberesocidae*, *Clupeidae*, *Engraulidae*, *Pomatomidae*, *Coryfenidae*. L'OSA dovrà pertanto garantire che durante tutta la vita commerciale, dalla pesca sino alla commercializzazione/vendita, i prodotti della pesca vengano mantenuti nel rispetto delle temperature di conservazione, protetti da contaminazioni microbiche.

Il rischio istamina dovrà essere adeguatamente considerato nelle procedure di autocontrollo dell'OSA, anche mediante l'effettuazione di verifiche in applicazione del Reg. (CE) 2073/2005 e s.m.i..

Nell'ambito dei controlli ufficiali vengono pianificati campionamenti per la sorveglianza del rispetto dei limiti sulla presenza di istamina nei prodotti della pesca ai sensi del Reg. (CE) 2073/2005. Ovviamente, nel caso in cui durante un controllo ufficiale sorga il sospetto del superamento dei limiti di istamina previsti anche attraverso il rilievo che l'OSA non dà adeguate garanzie di gestione del pericolo istamina, si procederà con un campionamento ufficiale. L'operatore del settore alimentare dovrà dimostrare di avere un sistema di gestione consapevole del pericolo istamina.

5.2 Parassiti

Per affrontare in maniera organica l'aspetto riguardante la presenza dei parassiti nei prodotti ittici bisogna tenere conto di due diversi fondamentali elementi che la normativa considera:

- la presenza di parassiti visibili (l'OSA non può immettere sul mercato prodotti manifestamente infestati);
- il ruolo zoonotico di alcuni parassiti, le relative procedure di risanamento/bonifica da applicare e le indicazioni sull'uso dei prodotti della pesca infestati.

Quest'approccio e interpretazione del contesto normativo viene ufficializzato nelle "Linee guida in materia di igiene dei prodotti della pesca" della Conferenza permanente per i rapporti tra lo Stato, le Regioni e le Province Autonome di Trento e Bolzano del 05/11/2015 (195/CSR). Questo documento si pone l'obiettivo di armonizzare i controlli ufficiali in materia d'igiene dei prodotti della pesca, condotti dalle Autorità Competenti sul territorio nazionale.

Il concetto di "**parassita visibile**" riveste un ruolo centrale dal punto di vista della tutela del consumatore e della sua percezione legata ai prodotti alimentari, dal momento che ogni soggetto può reagire in maniera diversa potendo percepire anche sensazioni di disgusto e ripugnanza in presenza di parassiti. Questo principio viene stabilito nel Reg. (CE) 853/2004 (Allegato III, sezione VIII, capitolo V lettera D): l'OSA deve assicurare che i prodotti della pesca siano sottoposti ad un controllo visivo per la ricerca di endoparassiti visibili prima dell'immissione sul mercato, avendo come obiettivo e responsabilità di non immettere sul mercato prodotti della pesca manifestamente infestati. Per quanto riguarda la ricerca dei parassiti visibili si applica il Reg. (CE) 2074/2005 "recante modalità di attuazione relative a taluni prodotti di cui al Reg. (CE) n. 853/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio" (Allegato II, sezione I) nel quale vengono indicate le definizioni di parassita visibile e di controllo visivo. Il Regolamento stabilisce che per parassita visibile s'intende "un parassita o un gruppo di parassiti che per dimensioni, colore o struttura è chiaramente distinguibile nei tessuti dei pesci". Il controllo deve essere assicurato lungo tutta la filiera ittica, infatti tutti gli OSA sono responsabili dell'applicazione di

procedure efficaci per il controllo del rischio “parassita visibile”. Ricordiamo che quest’ultimo regolamento è stato, in parte, abrogato dal Reg. (UE) 2019/627.

L’aspetto **zoonosico** dei parassiti ittici e il loro effettivo potere infestante sull’uomo e la loro gestione sono elementi fondamentali per la tutela del consumatore finale. Considerando il cambiamento delle abitudini alimentari dovuto al diffondersi di cucine orientali che sono diventate una vera e propria “moda”, il consumo di pesce, cefalopodi e crostacei crudi è diventata una realtà molto diffusa che di pari passo porta ad un’esposizione maggiore al rischio di infestazioni da parassiti di origine ittica.

I parassiti zoonotici sono molti: tra i più conosciuti e diffusi in Europa ci sono gli anisakidi nematodi che parassitano varie specie di pesci marini e molluschi cefalopodi, e che includono i generi *Anisakis*, *Contracaecum* e *Pseudoterranova*. Vengono ritrovate le forme larvali L3 che possono avere una localizzazione celomatica o muscolare. L’uomo rappresenta solo un ospite accidentale a fondo cieco (paratenico): le forme adulte si localizzano nello stomaco dei pinnipedi (genere *Pseudoterranova*) e nei prestomaci dei cetacei marini (genere *Anisakis*). Alcune specie sono più frequentemente parassitate di altre, tra queste ricordiamo: pesce sciabola, suro, nasello, melù, alice, sardina, lanzardo, sgombro e triglie. Ci sono anche altri elementi che influiscono sulla probabilità di riscontrare infestazioni da *Anisakidi*: ad esempio la zona di pesca o la provenienza da acquacoltura.

Un altro parassita ittico causa di infestioni umane è il cestode *Diphyllobothrium latum* che colpisce specie dulciacquicole, principalmente specie predatrici come pesce persico, luccio, lucioperca, bottatrice. Questi parassiti sono normalmente rilevabili con un controllo visivo e alla speratura, hanno una forma caratteristica e un colore biancastro. Le forme adulte si localizzano nella mucosa intestinale anche dell’uomo, dove possono raggiungere i 5-10 metri di lunghezza. I sintomi principali sono diarrea, vomito, dolori addominali, perdita di peso, affaticamento, costipazione e carenza di vitamina B12 che può portare all’instaurarsi di anemia megaloblastica.

Un importante parassita trematode zoonosico che infesta i *Ciprinidae* (principalmente la tinca e la carpa) è il trematode *Opysthorchis felineus*, non visibile ad occhio nudo. I sintomi principali nell'uomo sono diversi tra cui dolori addominali, stanchezza, perdita di peso, diarrea, anoressia, problemi digestivi, anche ittero fino a quadri di cirrosi epatica e colangiocarcinoma. Nelle carni dei ciprinidi si trovano le metacercarie. Quando viene consumato pesce crudo o poco cotto queste vengono ingerite e a livello di dotti biliari, si trasformano nella loro forma adulta e a circa 30 giorni vengono emesse le prime uova.

Il Reg. (UE) 2017/625 all'articolo 70 prevede che i controlli ufficiali sui prodotti della pesca comprendano tra gli elementi minimi anche il controllo dei parassiti, le cui modalità pratiche di gestione e verifica sono stabilite nell'allegato VI. In questo documento si stabilisce che devono venire svolte prove basate sul rischio per verificare la conformità all'allegato III, sezione VIII, capitolo III, parte D, del Reg. (CE) n. 853/2004 e all'allegato II, sezione I, del Reg. (CE) n. 2074/2005. Lo stesso Regolamento, come peraltro previsto dall'abrogato Reg. (CE) 882/2004, in caso di controlli non conformi per quanto concerne i requisiti relativi ai parassiti include all'articolo 71 nella sezione: "Decisioni successive ai controlli" le motivazioni di dichiarazione dei prodotti della pesca come non idonei al consumo umano.

La tematica del controllo dei parassiti e della relativa verifica dell'attività degli OSA da parte del controllo ufficiale è altresì inclusa nelle "Linee guida in materia di igiene dei prodotti della pesca" della Conferenza permanente per i rapporti tra lo Stato, le Regioni e le Province Autonome di Trento e Bolzano del 05/11/2015 (195/CSR) nella parte "Guida per i controlli ufficiali" nella sezione D. "Parassiti". A livello di produzione primaria le Autorità di Controllo verificano la gestione della presenza di parassiti che dovranno essere previste nelle modalità operative di corretta prassi igienica.

Nella produzione post-primaria verrà valutata la presenza e l'applicazione di procedure di autocontrollo basate sui principi del sistema HACCP che devono considerare e applicare quanto previsto dal Regolamento (CE) 2074/2005. Questo

anche attraverso controlli a campione sui prodotti e la verifica della formazione del personale addetto al controllo visivo.

Per quanto concerne la verifica negli stabilimenti riconosciuti che non effettuano operazioni di eviscerazione, sfilettatura, tranciatura, ecc. l'Autorità Competente dovrà comunque valutare le procedure basate sui principi dell'HACCP e la corretta applicazione delle stesse.

5.3 Residui e contaminanti

L'OSA dovrà assicurare l'immissione sul mercato di alimenti sicuri (Principio stabilito dal Reg.(CE) 178/2002) anche attraverso la garanzia del non superamento dei livelli di contaminanti previsto dal Reg. (CE) 1881/2006 e da altri regolamenti come il Reg. (CE) 396/2005 che fissa i livelli massimi di residui di antiparassitari nei prodotti alimentari.

L'OSA, nella gestione dei suoi prodotti, dovrà garantire che i campionamenti effettuati siano statisticamente significativi attraverso l'individuazione di metodiche di campionamento specifiche. Nei casi in cui i Regolamenti europei prevedano specifiche tecniche di campionamento gli operatori dovranno dimostrare di effettuare i campionamenti in conformità ai Regolamenti o attraverso una metodica di campionamento considerata equivalente.

Per quanto riguarda i residui e contaminanti, il controllo ufficiale effettua delle verifiche a campione di tipo analitico, andando a programmare campioni di monitoraggio sia nel pescato che a livello di commercializzazione dei prodotti della pesca.

Questa attività riveste un ruolo molto importante sia da un punto di vista di sicurezza alimentare che da un punto di vista ambientale, in quanto attraverso la valutazione dei livelli di contaminazione (Reg. (CE) 1881/2006) dei residui riscontrati possono essere svolte azioni specifiche sulla gestione dell'ambiente (Squadrone, 2013 - De Witte, 2022) e degli allevamenti. Facente parte di questo monitoraggio analitico è anche il piano nazionale residui (PNR) che in Italia garantisce, insieme alle analisi

effettuate in regime di autocontrollo dell'azienda, la corretta gestione dell'utilizzo dei farmaci e ha una capillare valutazione dei contaminanti presenti su tutto il territorio nazionale. A riprova di questo basti pensare alla recente introduzione di piani regionali specifici per il controllo delle microplastiche nei prodotti della pesca effettuati ad esempio dalla Regione Lombardia, anche in assenza di limiti di legge.

Per quanto riguarda la valutazione e il controllo del monitoraggio dei metalli pesanti è importante che venga utilizzato dall'Autorità Competente quanto previsto dal Reg.(CE) 333/2007 e s.m.i. che definisce il campionamento lungo tutte le fasi della filiera, dalla distribuzione alla vendita al dettaglio. Il controllo ufficiale incaricato della verifica di quanto viene effettuato dall'operatore deve tenere conto della specie, dell'origine, delle dimensioni, della taglia, del quantitativo della partita che devono essere associati e le attività del contesto commerciale in cui viene eseguito il campionamento. La linea guida CSR 195 del 2015 suggerisce di privilegiare il campionamento nelle fasi di produzione e commercializzazione nelle fasi precedenti a quelle della vendita, al fine di razionalizzare e rendere più efficaci i controlli su tutto il territorio nazionale. Questi principi sono anche applicati ai controlli effettuati negli uffici periferici del Ministero della Salute sui prodotti importati da Paesi Terzi (Galimberti, 2016).

5.4 Tossine nocive per la salute umana

Gli OSA, nell'ambito delle procedure di autocontrollo, devono prevedere dei controlli a campione al fine di garantire la corretta identificazione dei prodotti della pesca finalizzata agli aspetti sanitari. Il Reg. (CE) 853/2004 dispone che non vengano immessi sul mercato prodotti della pesca ottenuti da specie velenose, identificando le seguenti famiglie: *Tetraodontidae*, *Molidae*, *Diodontidae*, *Canthigasteridae*. Particolare attenzione dovrà essere posta nel riconoscere i tetraodontiformi decapitati e le rane pescatrici (*Lophidi*). Particolare attenzione dovrà essere posta anche, per quanto riguarda la nostra pesca mediterranea, al ritrovamento di tetrodotossina in cozze (*Mytilus galloprovincialis*) della laguna di Marano (UD) (Bordin, 2021). Non devono inoltre immessi sul mercato prodotti contenenti

ciguatossina: questo si ottiene evitando la commercializzazione di specie di prodotti della pesca predatrici più predisposte all'accumulo di ciguatossina, che vivono perlopiù in area tropicale o subtropicale. Il Reg. (CE) 853/2004 pone inoltre delle restrizioni per la vendita e la somministrazione di prodotti della pesca appartenenti alla famiglia dei *Gempylidae*, in particolare il *Ruvettus pretiosus* e il *Lepidocybium flavobrunneum*. Queste due specie possono essere commercializzate solo se opportunamente confezionate ed etichettate con una dicitura specifica che informa il consumatore sulle modalità di consumo/cottura e sul rischio della presenza di effetti gastrointestinali nocivi.

Nell'ambito del controllo ufficiale sono organizzati dei piani di campionamento dei molluschi bivalvi vivi sia in fase di trasformazione che sui punti di vendita dei prodotti confezionati da centri di depurazione e spedizione, al fine della verifica della presenza di biotossine algali ai sensi del Reg. (CE) 853/2004. Durante i controlli ufficiali si verifica che gli OSA abbiano tenuto in considerazione l'areale di pesca e la tipologia delle specie commercializzate, in riferimento alla provenienza dei prodotti per la presenza di biotossine algali come ad esempio la ciguatera (Antonelli, 2022; Loeffler, 2022).

5.5 Caratteri organolettici

Il primo requisito specifico previsto dalla normativa prevede che l'OSA garantisca che i prodotti della pesca soddisfino i criteri di freschezza attraverso la valutazione dei caratteri organolettici; tali requisiti sono stabiliti dal Reg. (CEE) 2406/96 e, laddove non applicabile, altri metodi di riferimento per la classificazione dei gradi di freschezza sono lo schema Artioli-Ciani (Linee Guida CSR/195) e la più recente metodica "QIM" (Quality Index Method) (Bernardo, 2020). L'OSA deve garantire che questa valutazione sia affidata a personale adeguatamente specializzato.

Il tema della valutazione dei caratteri organolettici per la determinazione della freschezza verrà trattato in maniera approfondita al capitolo 6.

5.6 Indicatori di freschezza

L'OSA non deve immettere sul mercato prodotti in cui siano stati superati i valori di indicatori di freschezza, in particolare l'Azoto Basico Volatile Totale (ABVT) e la Trimetilamina-azoto (TMA-N). Questi parametri sono caratteristici per le diverse specie, e i relativi valori soglia vengono fissati solo per alcune di queste.

L'Autorità di controllo, durante le attività ufficiali, nell'ambito della verifica dello stato di freschezza dei prodotti della pesca in caso di dubbio dovrà procedere al campionamento dei prodotti coinvolti al fine di determinare il contenuto di ABVT e TMA-N. La normativa comunitaria fissa, per alcune specie, i relativi limiti.

5.7 Criteri microbiologici

L'operatore del settore alimentare deve garantire la conformità ai requisiti microbiologici previsti dal Reg. (CE) 2073/2005, e deve tenere conto nel suo processo produttivo delle criticità dei prodotti della pesca che produce, trasforma, commercializza, somministra e della loro destinazione d'uso di cui deve tenere conto nell'analisi dei pericoli.

L'Autorità di controllo, attraverso la redazione di piani di campionamento microbiologici eseguiti a norma del Reg. (UE) 2017/625, dispone l'effettuazione di campionamenti per la verifica del rispetto dei limiti microbiologici previsti dal Reg. (CE) 2073/2005 sui territori di competenza, tenendo conto della valutazione del rischio delle produzioni che vengono raccolte, prodotte, trasformate, trasportate, commercializzate e somministrate. L'Autorità di controllo, nell'ambito dei controlli sul territorio, effettua campionamenti nel caso in cui sorga il sospetto di superamento dei limiti previsti dalla normativa comunitaria.

6. Valutazione sensoriale della freschezza

La valutazione della freschezza nei prodotti ittici può essere attuata nell'immediatezza mediante valutazioni di tipo sensoriale, che permettono di valutare caratteri organolettici in modo rapido ed economico attraverso osservazioni visive, percezioni di odori, percezioni tattili per saggiare la consistenza delle carni; questi criteri cercano di oggettivare quanto l'operatore o il controllore ufficiale si trovano a dovere valutare.

Fin dai primi del '900 ci furono dei tentativi di studiare e stabilire dei parametri di classificazione: nel 1907 l'inglese A. G. Anderson realizzò uno schema di valutazione per individuare il pesce alterato e il pesce fresco. Nel 1954 gli studiosi Artioli e Ciani condussero degli esperimenti presso i mercati ittici di Pescara e di Parma che permisero di mettere a punto il riferimento denominato "Schema Artioli – Ciani", nel quale vengono considerati due caratteri definiti "fondamentali", ovvero rigor mortis e odore, e altri caratteri definiti "ausiliari" quali aspetto generale, consistenza, occhio e branchie. Tale metodo è considerabile ad oggi ancora valido, sebbene per certi aspetti sia superato. Questo sistema di valutazione è tuttora un buon riferimento per le specie non direttamente contemplate nei Regolamenti europei e per quelle specie in cui non sono stati sviluppati altri sistemi di valutazione come il Quality Index Method (QIM). Importante è sottolineare che, per la maggioranza dei pesci d'acqua dolce, oggetto principale di questo studio, la normativa europea si riferisce alle specie marine e il sistema QIM contempla pochissime specie di acqua dolce. Quindi, tenere come riferimento lo schema Artioli-Ciani può essere una valida guida seppur adottando un adattamento per le specie di acqua dolce, non sempre così semplice ed immediato.

6.1 Lo "Schema Artioli – Ciani"

I caratteri definiti "fondamentali" nello schema sono gli elementi essenziali da valutare, in quanto necessari per stabilire il grado del livello di freschezza.

Il rigor mortis è quel fenomeno per cui vi è una contrazione muscolare che può insorgere e perdurare per una tempistica variabile dopo la morte. Per quanto riguarda

questo parametro, risulta indispensabile valutare una serie di elementi come lo stress che si è avuto nella fase di agonia prolungata o pre-agonica e che può portare ad una riduzione delle riserve di glicogeno intra-vitam, la temperatura dell'acqua e dell'aria che dipendono dalla zona di pesca e dalla stagione, e fattori legati alla tipologia di pesca: basti pensare alla diversità tra la tipologia di pesca a strascico e la pesca con amo, nonché alla gestione post mortem del pescato. Anche gli stessi Artioli e Ciani fecero altre considerazioni sul rigor mortis riferite ai pesci marini. La rigidità cadaverica a seconda del tipo di pesci si manifesta in maniera diversa: per esempio in pesci come acciughe, sgombri, cefali, boghe questo fenomeno compare in maniera progressiva e uniforme in tutti i muscoli del corpo; questo a differenza dei pesci piatti come ad esempio sogliole, platesse e rombi, dove la rigidità cadaverica insorge nella parte anteriore, poi mediana e infine posteriore.

Esistono diversi metodi per valutare il rigor mortis. Tra i più semplici c'è il metodo cosiddetto “cutting”, utilizzato per specie con corpo corto: si prende il pesce per la testa con le dita di una mano e si lascia poi sospendere il corpo nel vuoto: la flessione del corpo permette di dire che il rigor mortis ha avuto risoluzione.

L'insorgenza e la durata del rigor mortis sono condizionate non solo dagli aspetti accennati in precedenza, ma sono anche intrinseci della specie. Un inizio precoce da rigor mortis porterà a una sua risoluzione più rapida.

Il fenomeno del rigor mortis è un aspetto che non va trascurato anche da un punto di vista tecnologico, infatti è importante ad esempio nella produzione di filetti: la lavorazione effettuata prima del rigor mortis porterà a una miglior realizzazione di questa fase; da evitare sarà la lavorazione durante il rigor mortis che aumenterà il rischio della produzione del fenomeno cosiddetto di gaping (FAO).

L'odore è, nella pratica, uno degli aspetti più importanti che caratterizzano la valutazione organolettica delle specie ittiche. L'odore varia da specie a specie e contribuisce direttamente ad individuare nell'ambito dello schema considerato le categorie freschissimo, fresco, stantio e alterato.

Il pesce freschissimo è caratterizzato da un odore gradevole, definito salso, di alga marina. L'odore associato allo stato di conservazione fresco è sempre salso meno intenso o ancora gradito di fresco. Associato allo stato di conservazione stantio viene definito l'odore dolciastro o di frescume, e potrà essere definito come di orzo bagnato o leggermente fermentato. L'odore dello stato di conservazione alterato viene definito come fecaloide o ammoniacale.

L'odore è un elemento per certi aspetti difficile da descrivere, ma l'operatore e il veterinario durante la loro pratica riescono, grazie all'esperienza acquisita, a classificarlo in maniera rapida ed efficace.

Esiste una variabilità specifica all'interno di queste categorie: per quanto riguarda le specie marine, l'apprezzamento dell'odore salso può essere difficile ad esempio nei cefali in quanto normalmente questi pesci sono pescati in acque a bassa salinità.

Per quanto riguarda il pesce alterato, l'odore può essere sia fruttato o chiaramente ammoniacale, che avere una propria connotazione putrefattiva dovuta allo sviluppo di altri prodotti quali idrogeno solforato, mercaptani, solfuro dimetile in quantità variabili. Possono essere percepiti anche odori anomali come quelli di legno, gasolio, libro antico, muschio: essi possono portare all'impossibilità di vendita sul mercato dei prodotti (Grimm, 2004; Moretto, 2021).

L'odore di pesce e anche il suo sapore possono essere influenzati da contaminanti ambientali (Mohammadi, 2021). La tipologia di contaminante ambientale può determinare un'alta varietà di odori, ad esempio carburanti fenoli e sostanze derivate da carburanti, oli minerali (Lindholm-Lehto, 1992): questi composti sono altamente lipofili, pertanto possono accumularsi velocemente nel corpo dei pesci ed essere escreti in maniera molto lenta e poco efficiente.

Il caratteristico odore dei pesci d'acqua dolce è estremamente variabile rispetto all'odore delle specie marine, in quanto i livelli di trimetilammina (TMA), composto volatile derivante dall'ossido di trimetilammina (TMA-O) e principale responsabile dell'alterazione cosiddetta "di pesce", nei pesci d'acqua dolce è presente a livelli inferiori rispetto che nei pesci marini. La TMA nei pesci d'acqua marina può variare

da 1 a 4 mg/100g di TMA-N (azoto trimetilamminico) a valori superiori a 10 mg/100 g di TMA-N, quando il pesce emana il tipico odore stantio.

L'odore dei pesci d'acqua dolce é condizionato anche dall'ambiente in cui vivono o dove vengono allevati i pesci (Liu, 2021). Il classico odore di fango è determinato dalla geosmina, che può essere prodotta in particolari condizioni da alghe blu-verdi e batteri quali *Spreptomyceti* e *Actinomyceti*, e da 2-methyl-iso-borneolo (Howgate, 2004), che si sviluppano negli ambienti dulciacquicoli in cui vivono o vengono allevati in RAS alcune specie ittiche come la carpa, il pesce gatto, il coregone (Lindholm-Leto, 2019). Anche altri pesci allevati in vasche di terra possono manifestare questo odore che di solito è associato anche al sapore delle carni.

La variabilità specie specifica o determinata dall'appartenenza ad un genere è spiccata, un esempio può essere quello dell'odore caratteristico di alcuni salmonidi, tra cui il coregone o lavarello di pesca, che acquisisce un odore di cetriolo o di melone, il carassio sviluppa invece un tipico odore con note acidule.

Tra i caratteri ausiliari considerati nello schema Artioli-Ciani ci sono: aspetto generale, consistenza, occhio e branchie.

Per quanto riguarda l'aspetto generale, può essere valutato l'aspetto dei colori, che possono variare in relazione allo stato di freschezza da brillante (freschissimo) a smorto (stantio) fino a cinereo (stato alterato). Questo elemento dovrebbe comunque essere valutato nel contesto complessivo assieme agli altri parametri.

Viene valutato l'aspetto dell'occhio che può dare segni precoci di disidratazione; in caso di appannamento e variazioni di lucentezza può essere utilizzato come riferimento per un cambio dello stato di conservazione.

La consistenza è un parametro da mettere in correlazione con gli altri ed è altamente specie-specifico. Se prendiamo in considerazione ad esempio una spigola, il

ritrovamento di una consistenza molle-elastica aiuta ad individuare a categoria di freschezza in maniera immediata, mentre se viene rilevato nel molo o merlano non è necessariamente correlato a stati alterativi di conservazione.

Per verificare questa tipologia di parametro è sufficiente valutare l'eventuale impronta lasciata da un dito impresso sulle carni.

La colorazione delle branchie rappresenta un elemento utile nella valutazione della freschezza dei prodotti ittici. Lo schema Artioli-Ciani riporta che il pesce freschissimo è dotato di branchie di colore bordeaux che mano a mano si attenua nel prodotto fresco col colore porpora fino a diventare mattone in quello stantio e carnicino nel prodotto alterato. Anche in questo caso le differenze specie-specifiche sono determinanti: se si pensa ad esempio al colore normale delle branchie di cefali, latterino e ghiozzi presentano colorazioni meno accentuate anche se la categoria di freschezza è classificata come "freschissimo".

Variazione del colore branchiale si può osservare anche in pesci infetti da malattie o pescate in acque definibili contaminate.

6.2 Metodo ufficiale di valutazione della freschezza: il Reg. (CEE) 2406/96

La Comunità Economica Europea si dotò già dal 1976 di un Regolamento per la valutazione della freschezza dei prodotti ittici: il Reg. (CEE) 103/76. Le principali differenze sono quelle dell'individuazione di quattro categorie di freschezza che poi vengono direttamente confermate anche nel Reg. (CEE) 2406/96 tuttora in vigore.

Le categorie individuate di freschezza sono: extra, A, B, non ammesso al consumo umano. Il Reg. (CEE) 2406/ 96 disciplina le norme comuni di commercializzazione di alcuni prodotti della pesca (Simeonidou, 1997).

Questo Regolamento mette in evidenza che il tasso di deteriorabilità dei prodotti ittici dipende principalmente dalla specie e viene fissato un concetto di omogeneità che va rapportata alla specie, all'area di provenienza dell'imbarcazione, alle modalità

di cattura che determinano il grado di freschezza. Viene fissato il principio per cui una disomogeneità nella freschezza di parte della partita penalizza l'intera partita, declassandola alla categoria di freschezza inferiore (Nielsen, 2002).

Il citato Regolamento prevede che l'esame organolettico dei prodotti ittici venga svolto a campione dall'Autorità Competente al momento dello sbarco o comunque anteriormente alla prima vendita; l'esame organolettico dovrà essere ripetuto dopo la prima vendita al fine di constatare il mantenimento dei requisiti minimi di freschezza stabiliti dal Regolamento stesso (Freitas, 2021).

Vengono considerate determinate specie ittiche: 40 pesci, 4 crostacei, 3 molluschi, 2 invertebrati acquatici. Viene introdotta la classificazione, che è stata a volte criticata, di pesce bianco, pesce azzurro, selacei, cefalopodi, crostacei.

Il Regolamento introduce una valutazione simile a quella dello schema Artioli-Ciani, ma per certi aspetti più articolato: infatti vengono presi in considerazione altri aspetti come vasi sanguigni, muco, peritoneo, opercoli, carne, pelle.

Il muco cutaneo rappresenta un criterio importante da verificare: come per altri elementi si tratta di un parametro altamente specie-specifico, la cui valutazione viene effettuata sia a livello di branchie che a livello cutaneo, apprezzando sia l'odore che il colore. Il colore può passare direttamente dall'acquoso trasparente misto ad un odore di alghe marine, che classifica il prodotto nella categoria "extra", mentre la sua torbidità declassa il prodotto, in associazione ad altri elementi, nella categoria "A"; il muco con un aspetto lattiginoso fa categorizzare il prodotto nella categoria "B". L'evoluzione del muco può fare assumere colorazioni brunastre con presenza ematica, che accompagnato ad odori sgradevoli contribuiscono a caratterizzare il prodotto nella categoria "Non ammesso al consumo". La quantità di muco cutaneo, quindi, dipende dalla specie: nelle specie dolci oggetto di questo studio molte di esse presentano quantità di muco superiori a molte specie marine.

La presenza di scarso muco potrebbe dipendere anche dalla modalità di conservazione o essere associate a tecnopatie: una ipermucosità potrebbe essere causata da malattie tipiche della cute o da patologie batteriche, oltre che da sostanze che entrano in contatto con la cute e che potrebbero avere degli effetti irritanti. Il

muco cutaneo dei pesci ha infatti notoriamente una funzione di barriera contro i microrganismi ed una azione antibatterica.

Il Reg. (CEE) 2406/96 indica che, qualora emergano dubbi di freschezza dei prodotti della pesca a seguito di esame organolettico, è possibile ricorrere a controlli chimici e microbiologici, come peraltro già indicato da Reg. (CE) 2074/2005. Il Reg. (CEE) 2406/96 inoltre introduce la definizione di parassita visibile che poi viene ripresa in maniera più approfondita dal Reg. (CE) 2074/2005.

6.3 Il Quality Index Method: QIM

Il Quality Index Method (QIM) è un metodo utilizzato in tutto il mondo, specialmente nei Paesi del Nord Europa, per effettuare l'esame organolettico dei prodotti della pesca per cui è stato sviluppato. Questo sistema si propone come un metodo pratico, economico, rapido (Sveinsdottir, 2002) per valutare, attraverso esami sensoriali non distruttivi, lo stato di conservazione, identificando per ogni singola specie alcuni parametri considerati significativi da prendere in considerazione durante l'esame ispettivo. Nell'ultimo decennio è stato sviluppato per molte specie e prodotti (Giuffrida, 2017).

E' un metodo che è stato sviluppato dall'Unità di Tasmania Food Research (TFRU) del Commonwealth di Scienza e Ricerca Industriale (CSIRO). Questo metodo misura la variabilità che si instaura per alcuni parametri specie-specifici dando la possibilità di predire/stimare una shelf-life per un prodotto correttamente conservato, introducendo quindi l'opportunità di quantificare il massimo di giorni per i quali si mantiene un livello considerato sufficiente di sicurezza e qualità durante la vita commerciale.

Il metodo QIM può essere utilizzato lungo tutti i livelli della filiera ittica, offrendo la possibilità agli OSA di comprare i prodotti anche a distanza e stimare una durabilità commerciale basata su parametri oggettivi; questo con evidenti vantaggi per gli operatori, dando l'opportunità di ottimizzare la pianificazione e quindi l'impiego di risorse nella propria organizzazione.

Il sistema QIM introduce alcune migliorie rispetto alla metodica ufficiale (Reg. CEE 2409/96) in quanto la rende specie-specifica. La letteratura scientifica che contribuisce allo sviluppo dei sistemi QIM per ogni specie prevedono inoltre differenze nell'attribuzione dell'Indice di Qualità (Q.I.) e relativo valore di shelf-life a seconda della presentazione del prodotto.

Il sistema QIM attribuisce punti di demerito (da 0 a 3, dove lo "0" viene attribuito alla categoria ittica "freschissimo") per ogni caratteristica di parametri sensoriali considerata (Guillerm-Regost, 2006), senza che una prevalga sull'altra.

Lo sviluppo di uno schema QIM si compone di tre fasi principali: schema preliminare, schema finale e formazione, valutazione finale dello schema QIM.

- 1) Schema preliminare. Nello schema preliminare vengono verificati elementi caratteristici come consistenza, odore, colore delle branchie, occhi, pelle; nei soggetti interi consistenza dell'intestino; nelle specie eviscerate colore del sangue e delle superfici di taglio, attribuendo un punteggio di demerito da 0 a 3 per ogni parametro. La valutazione sensoriale viene effettuata da 2 o 3 esperti.
- 2) Schema finale e formazione. In questa fase vengono valutati gruppi di pesci (3-4) che sono stati stoccati nel ghiaccio per tempistiche diverse. La valutazione viene effettuata da almeno 6 esperti in diverse sessioni. Durante le prime sessioni vengono accertate le variazioni che si vanno ad instaurare durante lo stoccaggio e viene effettuata una media delle tempistiche di insorgenza. La valutazione viene effettuata senza conoscere il periodo di conservazione.
- 3) Validazione dello schema QIM. Durante questa fase c'è la possibilità di utilizzare dei parametri di riferimento microbiologici e chimici per validare il modello; vengono valutati almeno 5 pesci al giorno con una frequenza minima di almeno 3 giorni di conservazione. Lo studio dovrebbe essere ripetuto per valutare la significatività e la tendenza fra il tempo di conservazione in ghiaccio e il Q.I..

Il punto di partenza teorico di demerito è sempre 0, e il termine di conservazione corrisponde ad una valutazione sensoriale dopo la cottura.

Per calcolare il termine rimanente di conservazione in giorni del prodotto esaminato viene misurato il Q.I., che consiste nella sommatoria totale dei punti di demerito QIM e che viene messo in correlazione con i giorni di conservazione in ghiaccio (Hyldig, 2004). Per ottenere la correlazione fra le due variabili viene utilizzato il coefficiente R di Pearson che esprime la percentuale di varianza che hanno in comune le due variabili tramite una linea retta sui due assi cartesiani. Utilizzando questo modello viene determinato il tempo residuale di conservazione del prodotto alla temperatura di fusione del ghiaccio.

Per quanto riguarda la validazione microbiologica dei risultati ottenuti da QIM, alcuni Autori hanno considerato come la crescita microbica può manifestarsi come deterioramento negli alimenti trasformando a livello sensoriale la matrice (Gram, 2002). Bisogna considerare che gli organismi di deterioramento sono specifici per i vari prodotti ittici considerati, normalmente sono descritti come Gram-negativi, non fermentanti e psicotrofi (Gram, 1996). Sono stati individuati diversi batteri che possono essere monitorati per la valutazione della qualità delle diverse specie (Fogarty, 2019). L'analisi sensoriale del QIM può sia sottovalutare i dati forniti dall'analisi microbiologica (Sant'Ana, 2011) che sovrastimare la reale conservabilità microbiologica (Khodanazary, 2019). La microbiologia degli alimenti predittiva permette oggi una crescita di un approccio pragmatico per la gestione della sicurezza alimentare e qualitativa (Giarratana, 2022). I parametri ambientali che influenzano il comportamento dei batteri includono la combinazione di effetti intrinseci e estrinseci (Giuffrida, 2007; Giuffrida, 2017).

La validazione chimica fa riferimento alla serie di cambiamenti biochimici dopo la raccolta dei prodotti ittici, tra cui ci sono il consumo di ATP dopo la cattura, la produzione di derivati proteici non desiderati, degradazioni lipidiche (ossidazione). Le ricerche più utilizzate per verificare lo stato di conservazione dei prodotti ittici e in particolare il passaggio tra punteggio QIM e la condizione di "non ammesso al consumo" sono: Azoto Basico Totale (TVB-N), valore K e sostanze reattive all'acido tiobarbiturico (TBARS).

Il valore K rappresenta come un indicatore di freschezza ittica determinato dalla degradazione dei nucleotidi (Cheng, 2015). E' un valore che aumenta al diminuire

della freschezza, indica l'inizio di autolisi da parte dei batteri alteranti (Canizales-Rodriguez, 2015), è un indice molto in uso in Giappone.

Il TBARS (sostanze reattive all'acido tiobarbiturico) è un indice generalmente utilizzato per determinare prodotti ossidativi secondari e quindi in grado di interpretare il livello di ossidazione dei lipidi (Cheng, 2015). Nel pesce durante la degradazione si sviluppano alti livelli di acidi grassi insaturi che la correlano con questo parametro (Rodrigues, 2017). Bogdanovic (2012) ha utilizzato questo parametro per descrivere il QIM della Boga (*Boops boops*); questo parametro non è un metodo coerente per la valutazione della freschezza della seppie (Sykes, 2009), in quanto i molluschi cefalopodi hanno una piccola percentuale di lipidi.

Non sono stati stabiliti limiti univoci per identificare dei livelli accettabili di TBARS e una significativa correlazione con la valutazione di tipo sensoriale.

Uno dei maggiori vantaggi di questa metodica è quella di fornire una relazione lineare tra la freschezza specie specifica in relazione al tempo di conservazione nel ghiaccio (Ritter, 2016), in questo modo anche piccole differenze che vengono indicate dai valutatori non sono sempre in grado di influenzare il risultato finale (Bernardo, 2020).

L'efficienza dello schema di valutazione QIM dipende da molti fattori tra cui: dimensione del campione, le condizioni di stoccaggio dei campioni, la selezione dei parametri che compone il protocollo, la specie-specificità (Lazarin, 2016), l'esperienza dei valutatori (Ozogul, 2005) la validazione dei risultati di tipo "batteriological e chimico" (Nielsen, 2007; Sveindottir, 2002). Questi fattori possono essere associati ad alti costi andando a compromettere la riproducibilità del QIM, fornendo a volte risultati controversi anche per specie simili. Questo ha contribuito l'uso diffuso come metodo ufficiale per la valutazione della freschezza (Bernardo, 2020).

7. Parassiti visibili nelle specie dulciacquicole e anadrome

In tutti i prodotti della pesca, inclusi quelli dulciacquicoli, riveste un ruolo di primaria importanza il riscontro di parassiti visibili “ad occhio nudo”, come peraltro previsto dal Reg. (CE) 2074/2005.

Questo sia per quanto riguarda parassiti zoonosici che per quanto riguarda parassiti non zoonosici.

7.1. Nematodi

7.1.1. Anisakidi

A questa famiglia appartengono 5 generi: *Anisakis*, *Contracaecum*, *Hysterothylacium*, *Phocascaris*, *Pseudoterranova*. Il più diffuso è il genere *Anisakis*, seguito da *Contracaecum* e *Pseudoterranova* (Mattiucci, 2008).

I nematodi appartenenti alla famiglia Anisakidae con i tre generi *Anisakis*, *Pseudoterranova* e *Contracaecum* nel loro stadio di larve hanno una diffusione cosmopolita tra le popolazioni ittiche selvatiche, in misura minore in allevamento (Aibinu et al., 2019; Al Quraishy et al, 2019; Shamsi, 2019); la larva infettiva del terzo stadio (L3) nei pesci è in grado di infettare gli esseri umani che ingeriscono prodotti ittici crudi o poco cotti, provocando anche gravi sintomi clinici (Shamsi, 2011; Nagasawa, 2012).

L'anisakiasi è dunque una malattia zoonotica scatenata dalle L3 di *Anisakis* (Nieuwenhuizen, 2013). Questo parassita abitualmente infesta i mammiferi marini adulti; ospiti intermedi e/o ospiti paratenici delle larve sono crostacei, cefalopodi e pesci (Nieuwenhuizen, 2013). Gli esseri umani possono tuttavia venire infettati accidentalmente quando gli ospiti vengono ingeriti crudi o non adeguatamente cotti o trattati, come in caso di pasti a base di pesce/molluschi. Pertanto, l'infezione è direttamente correlata con le abitudini alimentari (Pampiglione, 2002). Piatti infestati di pesce crudo, come il sushi e il sashimi comunemente presenti nei piatti nazionali giapponesi, nonché la tradizione culinaria del Giappone, così come la tradizione culinaria del consumo di pesce marinato o crudo in Paesi europei come l'Italia, sono

una fonte significativa di infezione (Ivanovi, 2015; Yorimitsu, 2013). La globalizzazione di tale cucina ha migliorato le capacità di diagnosi (sviluppo di migliori strumenti diagnostici) e portato ad una maggiore consapevolezza dell'infezione da anisakiasi: come conseguenza si è avuto un incremento della frequenza delle segnalazioni di casi di anisakiasi nella maggior parte dei continenti (Ivanovic, 2015; Bucci, 2013).

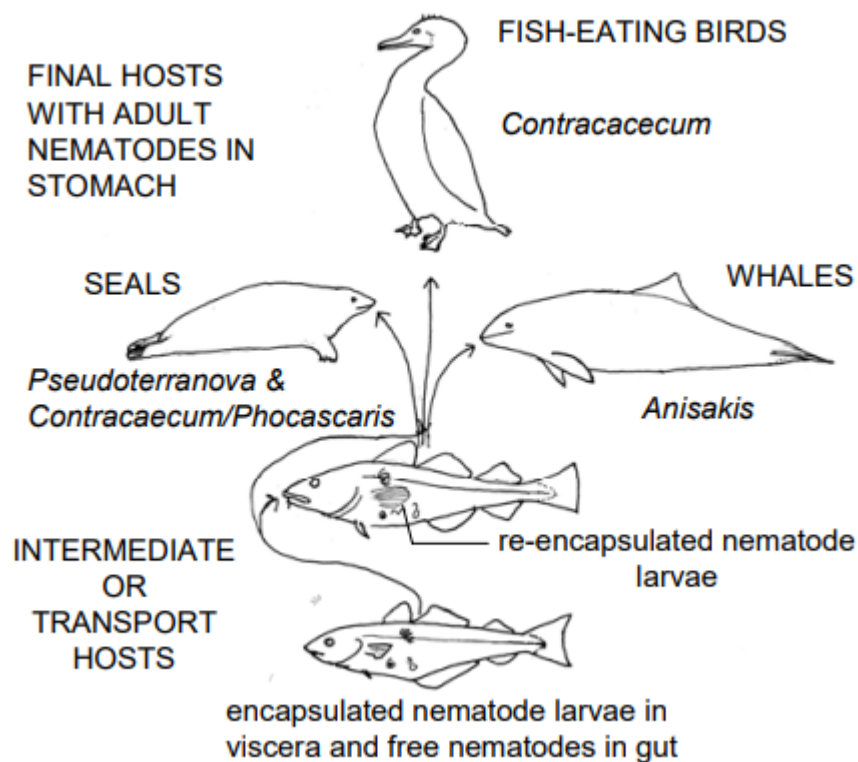


Fig. 2: Illustrazione schematica dei cicli vitali dei parassiti nematodi anisakidi (Berland, 2006)

Il genere *Contracaecum*

Il genere *Contracaecum* è costituito da specie “sorelle” che parassitano uccelli piscivori, principalmente della famiglia *Pelecanidae* (Mattiucci, 2010), *Phalacrocoracidae*, *Ardeidae* (Shamsi, 2019). Il ciclo vitale è complesso e di fatto non è ancora stato completamente chiarito per la maggior parte delle specie segnalate. Nello studio condotto da Shamsi nel 2019 viene presentato il ciclo vitale

“generale”: le uova vengono rilasciate in acqua dagli ospiti definitivi, si embrionano in larve di primo stadio (L1) all'interno delle uova e poi si sviluppano ulteriormente mutando in L2. Sia le uova che le larve possono essere ingerite da un'ampia varietà di invertebrati acquatici che fungono da ospiti intermedi (Semenova, 1979), sebbene il loro ruolo nella trasmissione naturale ai pesci non sia ancora completamente chiarito, e da diverse specie ittiche che svolgono un ruolo di secondi ospiti paratenici (Anderson, 2000). Diverse specie di uccelli e mammiferi piscivori che vivono in ambienti d'acqua dolce, salmastri e marini, svolgono il ruolo di ospiti definitivi ingerendo pesci parassitati (Davidovich, 2022). Nonostante queste informazioni generali sul ciclo vitale, alcuni ricercatori hanno descritto modelli diversi basati sull'infezione sperimentale con alcune specie di *Contracaecum* (Bartlett, 1996).

Il genere *Hysterothylacium*

Il genere *Hysterothylacium* comprende 89 specie accettate (WoRMS, 2021, Algabbani, 2021). La presenza di parassiti del genere *Hysterothylacium* è molto comune (Klimpel, 2005). I pesci diventano ospiti finali, differenza di *Anisakis* spp., *Pseudoterranova* spp. e *Contracaecum* spp. che utilizzano cetacei, foche e foche/uccelli ittiofagi nel loro ciclo vitale, rispettivamente (Berland, 2006). I piccoli crostacei fungono da primo ospite intermedio e i pesci da secondo ospite intermedio o paratenico (Berland, 2006). *Hysterothylacium* si localizza nei visceri dei pesci. Il quarto stadio larvale (L4) e gli adulti si localizzano e si riproducono all'interno del tratto digerente (stomaco e intestino), mentre il terzo stadio larvale (L3) si trova comunemente negli organi interni, come il piloro e l'intestino (Berland, 1961). Poiché *H. aduncum* vive esclusivamente in organismi a sangue freddo, non è si adattato alle condizioni prevalenti nel tratto alimentare dei mammiferi (Karl, 2011). Pertanto, *H. aduncum* è comunemente considerato non zoonotico (Cavallero, 2020). Tuttavia, *H. aduncum* può infestare pesantemente molte specie ittiche, e la presenza di esemplari larvali o adulti può determinare, se non gestito correttamente, la non conformità alla normativa europea in termini di “presenza di parassiti visibili” e ridurre pesantemente l'appeal estetico dei prodotti ittici, causando potenzialmente

problemi socioeconomici all'industria della pesca e di tutta la filiera ittica (Bao, 2021).

7.1.2. *Eustrongylides*

La distribuzione dei parassiti nematodi del genere *Eustrongylides* (Jagerskiold, 1909) include i parassiti della famiglia *Dioctophymatidae*; nel mondo è segnalata in tutti i continenti e le zone climatiche ad eccezione delle zone artiche e subartiche (Honcharov, 2022 - Guagliardo, 2019); in generale la sua distribuzione è concentrata nelle zone continentali tropicali e subtropicali (Barros, 2010). Questi nematodi sono diffusi principalmente in prossimità di aree acquatiche, per lo più in acque dolci e meno in quelle salate (Spalding, 1993). È presente un ciclo biologico indiretto che mette in evidenza la presenza di due ospiti intermedi e di uno definitivo.

Molte specie di uccelli ittiofagi possono fungere da ospite definitivo, per esempio *Ciconiiformes*, *Anseriformes*, *Gaviiformes*, *Pelecaniformes*. Nei territori italiani, tra le specie di uccelli più significative si riscontra il cormorano comune (*Phalacrocorax carbo*) (Novakov, 2013 - Franceschini, 2022). I parassiti adulti si localizzano nello spessore della parete del proventricolo, ma anche del ventricolo e dell'intestino di uccelli piscivori e di acqua dolce, dove inducono la formazione di importanti tragitti cavitari e di imponenti reazioni granulomatose intorno al sito di penetrazione e attacco (Measures, 1988; Xiong, 2009). Questa specie di nematode crea spesso strutture di tipo capsulare e induce un'intensa risposta infiammatoria nel muscolo dei pesci, coinvolgendo fibroblasti, aggregati di macrofagi e mastociti, che sono gli elementi immunitari dominanti dell'ospite osservati a livello istologico (Dezfuli, 2015). Questi parassiti sono stati anche considerati come causa di episodi di mortalità tra i nidiacei di differenti uccelli ittiofagi (Spalding, 2009).

Le larve si sviluppano nell'uovo che viene espulso dagli uccelli ittiofagi nelle feci e viene ingerito da oligocheti che rappresentano i primi ospiti intermedi (ad esempio *Tubificidae*, *Lumbricolidae*) (Menconi, 2021).

Per quanto concerne gli ospiti intermedi, in essi il parassita si sviluppa nel secondo e terzo stadio larvale (L2, L3), risultando infettivi per i secondi ospiti intermedi che

sono specie ittiche planctoniche e bentivore e pelagiche, dove le larve del terzo stadio compiono la muta nel quarto stadio e rimangono fino all'ingestione del quarto stadio da parte degli ospiti definitivi (Measures, 1988; Spalding, 1993; Spalding, 2009).

Le specie appartenenti a questo genere che si risultano più diffuse sono: *Eustrongylides tubifex*, *E. ignotus* ed *E. excisus*. La morfologia caratteristica di questo parassita lo rende facilmente individuabile per le dimensioni e per il colore rosso; viene segnalato in moltissime specie ittiche anche d'interesse commerciale. Questo diventa senza dubbio uno degli esempi più calzanti del principio di “parassita visibile” che deve essere gestito dagli OSA in ottemperanza del Reg. (CE) 2074/2005 (D'Amico, 2014; Branciarì, 2016; Franceschini, 2022).

Questa tipologia di nematodi in Italia è stata riscontrata principalmente nelle seguenti specie: pesce persico (*Perca fluviatilis*), persico trota (*Micropterus salmoides*), anguilla (*Anguilla anguilla*), tinca (*Tinca tinca*), pesce gatto (*Ameiurus melas*), latterino (*Atherina boyeri*), carpa (*Cyprinus carpio*), carassio (*Carassius carassius*), persico sole (*Lepomis gibbosus*), scardola (*Scardinius erythrophthalmus*), cavedano (*Squalius cephalus*) (Branciarì, 2017, Menconi 2020, Guardone 2021).

Il ritrovamento di questi parassiti può avere un impatto e un interesse di salute pubblica in quanto può avvenire in pesci che non avevano subito i trattamenti termici inattivanti sia freddi che caldi previsti dalla normativa (Reg. CE 853/2004). Questa zoonosi al momento può essere considerata “minore”: ad oggi non desta forte preoccupazione in quanto in letteratura non sono riportati molti casi (Eiras, 2018).

Il genere *Eustrongylides* è presente nella lista insieme ad altri nematodi come potenziale parassita con un impatto sulla salute pubblica (FDA, 2012). In letteratura sono stati descritti almeno 2 casi nel Sudan e 5 casi negli USA: di questi ultimi 5, solo un caso è stato attribuito al consumo di sushi preparato in casa, mentre gli altri quattro sono stati causati dal consumo di pesci vivi da parte di pescatori. Quattro dei cinque casi degli Stati Uniti hanno richiesto un intervento chirurgico finalizzati a rimuovere i nematodi (Williams, 2022). Il sintomo correlato che si è manifestato è stato dolore addominale, sviluppatosi in tutti i casi entro 24 ore dall'ingestione del pesce (CDC, 1982; Eberhard, 1989; Wittner, 1989; Eberhard, 2014; Guerin, 1982).

In Italia non sono stati segnalati casi di infestazione nell'uomo nonostante questi eustrongilidi si siano diffusi sia in Nord Italia (laghi di Garda, San Michele, Ceresio, Montorfano, Annone) che in Centro Italia (laghi Trasimeno e di Massaciuccoli (Rusconi, 2022; Menconi, 2020).

7.2. Cestodi

I cestodi sono endoparassiti cosmopoliti, caratterizzati dal possedere un corpo dotato di una porzione apicale adesiva chiamata "scolice", un breve segmento chiamato "collo" e uno strobilo con un numero variabile di cellule che si nutrono attraverso un tegumento metabolicamente attivo costituito da microtriche e tessuto filtrante.

La classe Cestoda comprende 13 Ordini e circa 5000 specie, tra cui: *Bothriocephalidea*, *Caryophyllidea*, *Diphyllobothriidea*, *Lecanicephalidea*, *Proteocephalidea*, *Pseudophyllidea*, *Tetraphyllidea* e *Trypanorhyncha*.

7.2.1. *Triaenophorus*

Le tenie del genere *Triaenophorus* (Rudolphi, 1793) (Cestoda: Bothriocephalidea) sono parassiti frequenti del luccio (*Esox lucius* L.), con una distribuzione geografica circumboreale (Kuperman 1973; Schmidt 1986; Bray, 1994; Kuchta, 2007).

Studi molecolari recenti hanno stabilito una nuova collocazione tassonomica per i cestodi *Triaenophoridae* cui la specie *T. nodulosus* appartiene e che ha portato all'eliminazione del gruppo *Pseudophyllidea* e alla sua divisione in *Bothriocephalidea* e *Diphyllobothriidea* (Brabec, 2006).

Le tenie del genere *Triaenophorus* spp. sono parassiti di *P. fluviatilis* e di *E. lucius*. Le due specie più diffuse, che hanno come ospite definitivo il luccio (*Esox lucius*), sono *T. crassus* e *T. nodulosus*: gli adulti albergano nel suo intestino. Entrambe le specie hanno un'ampia diffusione in tutto il globo, e sono state segnalate sia in acque italiane che in acque europee (Gustinelli, 2006; Dezfuli, 2014).

Il primo ospite intermedio di questi cestodi è rappresentato da alcuni copepodi solitamente del genere *Cyclops*, che costituiscono il cosiddetto zooplankton di cui molti pesci si cibano infestandosi con parassiti e patogeni (Hoffmann, 1986) o mangime da somministrare in acquacoltura per gli stadi giovanili delle specie ittiche (Lahnsteiner, 2009). Il secondo ospite intermedio è rappresentato da specie ittiche diverse, prevalentemente il pesce persico nel caso di *T. nodulosus* e il coregone per *T. crassus* (Kupermann, 1973). Il primo si localizza più frequentemente a livello epatico, ma occasionalmente può essere rinvenuto anche a livello di milza, gonadi, reni e muscolatura (Kupermann, 1973).

La presenza del parassita può causare lisi delle membrane cellulari delle cellule epatiche e vari sintomi, fra i quali anemia, leucocitosi, infiammazione, necrosi, iperemia, emorragie, atrofia (Brinker, 2007). Un'altra conseguenza è il calo del contenuto di glicogeno e dei livelli di glucosio nel fegato, associato anche ad un aumento della percentuale di umidità e con un'influenza sul metabolismo dei carboidrati (Izvekova, 2013). La fisiologica conseguenza di tutte queste alterazioni è la riduzione degli enzimi digestivi.

In uno studio di Izvekova e Coll. (2014) svolto in Russia, la presenza di *T. nodulosus* nel fegato è stata correlata con la presenza di trematodi a livello del tratto intestinale (Morley et al., 2017). I plerocercoidi nel fegato vengono incapsulati da una risposta tissutale dell'ospite (Brinker et al., 2007).

Per quanto riguarda invece *T. crassus*, il secondo ospite intermedio è rappresentato principalmente dal coregone (*Coregonus* spp.) e si localizza prevalentemente a livello di muscolatura, causando disturbi natatori e suscettibilità alla predazione (Gustinelli, 2008); può inoltre determinare una svalutazione a livello commerciale dei soggetti parassitati. Le larve plerocercoidi possono causare mortalità specialmente in acquacoltura (Rodger, 1991) e ciò dipende dall'intensità dell'infestazione.

Le infestazioni ittiche da queste due specie di cestodi *Pseudophyllidei* rivestono un ruolo importante sia da un punto di vista qualitativo che sanitario (concetto di "assenza di parassita visibile"), che va però distinto dalla plerocercosi da *Diphyllobotrium latum*, che rappresenta una grave zoonosi ittica.

7.2.2. *Botriocephalum e Diphyllobotrium latum*

Diphyllobotrium latum è un cestode a diffusione globale nelle acque dolci, specialmente nei laghi europei, in Russia, Finlandia, Scandinavia, zone alpine e Asia e America (Macpherson, 2000). E' principalmente un parassita dell'uomo, ma può esserlo anche di cane, gatto, suino, orso in caso di ingestione di pesce infestato. L'uomo contrae la parassitosi ingerendo carni di ospiti intermedi (trota, luccio, altri pesci d'acqua dolce) crude o poco cotte.

Lo stadio adulto si localizza nell'intestino tenue dell'uomo; le sue proglottidi (fino a 3000) emettono più di 1 milione di uova al giorno per singolo parassita e raggiungono l'ambiente esterno tramite le feci dell'ospite definitivo. Le uova in acqua embrionano in circa dieci giorni e liberano il coracidio che viene ingerito dal primo ospite intermedio, un copepode, dove il coracidio evolve in larva procercoide. Il copepode viene ingerito da un secondo ospite intermedio, generalmente un pesce d'acqua dolce, in cui la larva procercoide viene rilasciata dal crostaceo per migrare nelle carni dell'ospite, in cui converte in larva plerocercoide; i piccoli pesci d'acqua dolce possono essere oggetto di alimentazione di pesci d'acqua dolce di maggiori dimensioni come trota o luccio, in cui la larva plerocercoide può rimanere in cavità celomatica o migrare nelle carni.

7.2.3 *Caryophyllidea*

Le tenie dell'ordine *Caryophyllidea* sono state segnalate in pesci siluriformi e cipriniformi d'acqua dolce in Africa, Asia, Australia, Europa e Nord America (Mackiewicz 1994). Sono caratterizzati da una forma corporea monoplerioide e da un ciclo vitale che coinvolge vermi tubificidi (*Anelida, Oligochaeta*) come ospiti intermedi (Ibraheem, 2006).

Nei ciprinidi in Europa il riscontro di tenie dell'ordine *Caryophyllidea* è un riscontro frequente; ne sono state individuate 18 specie (Kuchta, 2020); il più ampio spettro d'ospite tra i cestodi europei nei ciprinidi è stato riportato per due caryofillidi considerati poco generalisti, ovvero *Caryophyllaeides fennica* e *Caryophyllaeus laticeps*, con 34 e 30 specie ospiti, rispettivamente.

In generale, questi cestodi sono piuttosto uniformi nel sito di attacco: gli adulti di quasi tutte le specie si trovano esclusivamente nel tratto digestivo (lume intestinale) (Williams, 1994).

Tra le più importanti specie del genere, tutti parassiti della carpa si trovano: *Atractolytocestus huronensis* che porta a degenerazione o perdita completa dell'epitelio, *Khawia sinensis* che porta a mortalità degli avannotti di carpa, distruzione meccanica e irritazione dell'intestino e *Caryophyllaeus fimbriceps* che provoca distruzione meccanica e irritazione dell'intestino del pesce (Scholz, 2021).

PARTE SPERIMENTALE

1. SCOPO DELLO STUDIO

Lo scopo dello studio è quello di dimostrare il ruolo di osservatorio epidemiologico dei mercati ittici attraverso l'evidenziazione di malattie zoonosiche, infettive diffuse, parassitarie, neoplastiche e tecnopatie con particolare riguardo ai pesci dulciacquicoli. Ciò attraverso valutazioni necroscopiche, a campione, con la finalità di enucleare l'eventuale utilità dei risultati dei controlli sulla "materia prima" da parte degli OSA, nonché nella potenziale creazione di un feedback tra Autorità Competente del Controllo Ufficiale e OSA dell'intera filiera ittica non dissimile da quanto previsto attualmente nel comparto carni.

2. MATERIALI E METODI

2.1 Attività di campionamento

I campioni che sono stati esaminati ai fini di questo studio sono stati prelevati presso il mercato ittico di Milano nel triennio compreso fra settembre 2019 e luglio 2022 nell'ambito del progetto di dottorato in Scienze Veterinarie dell'Università degli Studi di Messina, con la collaborazione tecnico-scientifica del Veterinario Ufficiale Responsabile U.O. Mercati Generali dott. Renato Malandra di ATS della Città Metropolitana di Milano.

L'attività di campionamento si è svolta presso il mercato ittico di Milano durante le fasi di vendita a partire dalle ore 4 AM, orario d'inizio delle fasi di contrattazione.

Sono state condotte 100 attività di sopralluogo presso il laboratorio della struttura in uso dal personale di controllo ufficiale della ATS della Città Metropolitana di Milano. I soggetti sottoposti a campione sono stati trasferiti e stoccati temporaneamente in una cella a temperatura refrigerata (0-2°C) di tipo statico, in attesa della prima processazione per un massimo di tempo inferiore all'ora.

Le attività del progetto prevedono due metodologie di campionamento:

1. Campionamento casuale di soggetti in vendita presso il mercato presenti al momento del sopralluogo, mirato alle specie dulciacquicole comprese quelle anadrome e catadrome;

2. Eventuale piano di campionamento mirato eseguito a seguito di riscontro patologico durante le attività di sopralluogo e/o ispezione, per cui si ritiene di effettuare un approfondimento accurato.

Il campionamento è stato eseguito con cadenza settimanale, durante tutto l'arco dell'anno: questo per potere garantire una maggiore rappresentatività anche considerando la normale discontinuità degli arrivi a cui sono legati i prodotti della pesca dulciacquicoli, influenzati da disponibilità stagionali e da altri fattori come ad esempio il fermo pesca, le condizioni meteorologiche, l'andamento dei prezzi di mercato, le richieste dinamiche di natura prettamente commerciale.

La scelta di un campionamento mirato delle specie d'acqua dolce è dettata dal fatto che i volumi sul mercato italiano rappresentano una quota inferiore rispetto ai pesci d'acqua marina, pur costituendo una realtà commerciale non trascurabile.

Nell'ambito del Dottorato di ricerca, durante le sessioni di campionamento nel mese di febbraio 2021, a seguito di ritrovamento di un esemplare di pesce spada con presenza parassitaria nelle camere cardiache è stato effettuato un campionamento con cadenza settimanale per esaminare i cuori. Il campionamento è proseguito da febbraio 2021 ed è stato mirato su esemplari di pesce spada provenienti da Atlantico Nord-Orientale – acque portoghesi (FAO 27.IXa) e Atlantico Centro-Orientale (FAO 34), per un totale di 364 cuori campionati. Dopo una valutazione macroscopica sono stati registrati gli indici biometrici di lunghezza e peso dei soggetti da cui sono stati prelevati i cuori.

2.2 Controllo, valutazione e necropsia

Al momento del prelievo si è provveduto alla verifica di tutti i soggetti per la conferma della specie e alla contestuale verifica di quanto dichiarato in etichetta. Contestualmente si è proceduto con l'acquisire i dati riferiti alla provenienza (di cattura/di allevamento e zona di origine/allevamento) ed alla metodica di cattura/strumento di pesca.

I soggetti campionati sono stati sottoposti a una valutazione dello stato di freschezza: le specie incluse nel Reg. (CEE) 2406/96 sono state classificate nelle categorie di freschezza extra, A, B, non ammesso, mentre per le specie per cui è anche disponibile lo schema QIM specie-specifico è stata effettuata la verifica utilizzando questa nuova metodologia.

Per tutte le specie sono stati valutati consistenza ed odore; per i pesci d'acqua dolce, per la cui maggior parte delle specie non è previsto il QIM e che non sono contemplate nei Regolamenti europei, è stata effettuata una valutazione che prende a riferimento lo schema Artioli-Ciani del 1954 "adattato" alla singola specie d'acqua dolce. I due parametri definiti nello schema caratteri "fondamentali", sono gli elementi essenziali da valutare, in quanto necessari per stabilire il grado del livello di freschezza.

Si è proceduto alla misurazione e alla pesatura di tutti i soggetti; successivamente si è effettuata l'indagine autoptica degli stessi accompagnata da una sfilettatura manuale e ad una valutazione visiva tramite l'utilizzo di uno speratore ottico in camera oscura.

Nei casi in cui in soggetti siano state riscontrate lesioni anatomopatologiche e neoformazioni, ne veniva prelevata una porzione rappresentativa attraverso l'utilizzo di bisturi, forbici e pinzette chirurgiche; i campioni con tali lesioni sono stati fissati in formalina tamponata al 10% e conservati a temperatura ambiente; successivamente sono stati conferiti presso il laboratorio di Ittiopatologia del Dipartimento di Scienze Veterinarie dell'Università degli Studi di Messina.

Per quanto concerne i campioni contenenti parassiti e cisti parassitarie, essi sono stati fissati in alcool al 70% al Dipartimento di Scienze Veterinarie dell'Università degli Studi di Messina e al Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie dell'Università di Bologna Alma Mater (prof. Andrea Gustinelli).

Ogni caso documentato è stato riportato in una scheda ideata appositamente per questo studio, nella quale sono stati raccolti con sistematicità i dati di tracciabilità del lotto, tra cui informazioni sulla specie, sull'area di pesca (bacino idrico o zona FAO di pesca o Paese di allevamento). Nella scheda sono stati indicati anche il giorno di prelievo del campione, lo stato di freschezza, i dati biometrici dei soggetti (lunghezza

e peso), una breve descrizione di quanto rilevato nel corso dell'autopsia e una selezione delle immagini fotografiche ritenute più significative scattate durante le attività.

2.2.1 Esami istopatologici

I campioni da sottoporre ad esami istopatologici dopo essere stati fissati in formalina al 10% sono stati disidratati e sottoposti al protocollo istologico per l'inclusione in paraffina.

- Risciacquo in acqua di fonte: 24h
- Alcool 70°: 12h.
- Alcool 80°: 9h.
- Alcool 90°: 3h.
- Alcool assoluto 1: 1h.
- Alcool assoluto 2: 30 min.
- Xilolo: 1h
- Paraffina 1: 2h a 48°
- Paraffina 2: 2h a 58°
- Inclusione

Il blocchetto è stato poi posto 2h su piastra fredda per poi procedere al taglio al microtomo delle fette a 6 µm di spessore; i vetrini sono stati lasciati riposare in stufa a 37° per 24h. Successivamente è stata effettuata la colorazione dei vetrini con ematossilina-eosina, i passaggi sono stati i seguenti:

- Sparaffinatura in xilolo: 30 min.
- Passaggi in alcool decrescente da alcool assoluto ad alcool a 50°: 5 min. cadauno.
- Risciacquo in acqua distillata.

- Colorazione ematossilina: 15 min.
- Risciacquo in acqua di fonte: 10 min.
- Colorazione eosina: 3 min.
- Risciacquo in acqua distillata.
- Passaggi veloci in alcool crescenti
- Passaggi in xilolo per il montaggio dei vetrini.

I campioni microbiologici sono stati prelevati con l'ausilio di tamponi sterili, conservati a temperatura di refrigerazione e conferiti presso il laboratorio di Ittiopatologia dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna, sede territoriale di Brescia (con la collaborazione del dott. Cristian Salogni).

2.2.2 Esami batteriologici

I campioni, prelevati sterilmente da fegato, rene anteriore, milza, cervello, sono stati inoculati in medium di primo isolamento quali: agar sangue (AS), agar soia triptico (TSA) e agar-tiosolfato-citrato-bile-saccarosio (TCBS). Le piastre seminate sono state incubate in condizioni aerobiche a 22°C per 48 ore. Successivamente si è proceduto con l'identificazione morfologica delle colonie e il raggruppamento degli isolati batterici, che venivano selezionati, nuovamente strisciati su TSA e AS e incubati per 48 ore a 22° C (Austin, 2016). Prima delle, eventuali, successive identificazioni biochimiche.

2.2.3 Identificazione parassitologica

I parassiti sono stati colorati, chiariti in glicerina per 24 h, montati e quindi identificati con opportune chiavi dicotomiche per l'identificazione delle specie. Tutte le analisi morfologiche sono state eseguite al microscopio ottico (Axioskop 2 plus

Zeiss) e tutte le immagini sono state riprese con una fotocamera digitale (Axiocam Mrc Zeiss) e un sistema digitale (Axiovision Zeiss).

Analisi molecolare

L'analisi molecolare è stata condotta secondo quanto descritto da Guardone et al. (2021).

Un frammento di circa 900-bp della regione ITS-1, del gene 5.8S della regione ITS-2 oltre a circa 70 nucleotidi del gene 28S (ITS) è stato amplificato usando i primers NC2 e NC5 (Zhu, 1998). Le amplificazioni tramite PCR sono state allestite in un volume di 20 microlitri contenente 4 microlitri di tampone 5 x buffer (biotechrabbit GmbH, Berlin, Germany), 200 μ M di ciascun dNTP (dNTPmix, EurocloneS.p.A-Life Sciences Division, Pavia, Italy), 250 nM primers, 2.5 U Taq DNA Polymerase (biotechrabbit GmbH, Berlin, Germany), 1–2 μ l di DNA (50–100 ng/ μ l) e DNase free water (Water Mol. Bio. Grade, DNase-RNase and Protease free, 5Prime GmbH, Hamburg, Germany) con il seguente programma di cicli: 95°C per 3 minuti; 40 cicli a 95 °C for 30 secondi, 55°C per 30 secondi, 72°C per 75 secondi, finale con 72°C per 10 min. I prodotti ottenuti con PCR sono stati analizzati con elettroforesi in gel 2% di agarosio.

Gli ampliconi dotati della lunghezza attesa sono stati sottoposti a sequenziamento forward e reverse Sanger. Le sequenze così ottenute sono state analizzate, modificate ed assemblate con l'ausilio del software Geneious R7 (Kearse, 2012), poi comparate con le sequenze depositate in GenBank utilizzando il Basic Local Alignment Search Tool (National Center for Biotechnology Information database). Il metodo della Massima Likelihood e il modello a 2 parametri di Kimura (Kimura, 1980) con 100 ricampionamento bootstrap sono stati utilizzati per produrre un albero in MEGA-X (Kumar, 2018) usando 5 sequenze scelte con criterio di casualità fra quelle prodotte in questo studio (in quanto identiche) e le sequenze depositate come *E. excisus* e *Eustrongylides* sp., che erano già state selezionate nell'analisi ML da Mazzone e colleghi nel 2019.

Le sequenze prodotte in questo studio e usate per le analisi filogenetiche sono state depositate presso la GenBan (Guardone, 2021).

Per quanto concerne i parassiti riscontrati nei cuori di pesce spada sono state effettuate indagini molecolari per l'identificazione di specie utilizzando tre marcatori (Cytochrome C oxidase subunit II/Cox2, nuclear ribosomal ITS regions/ITS-I-5.8S-ITS-II e small subunit of the mitochondrial ribosomal RNA gene /rrnS).

2.3 Analisi statistica

Lunghezza e peso di pesci persici e carassi parassitati e non parassitati sono stati confrontati con il t-test di Student. Il rapporto tra consistenza e lesioni emorragiche nei carassi è stato analizzato con il test esatto di Fisher. L'analisi è stata eseguita con R (R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing,

3. RISULTATI

3.1 Riscontri di specie, stato di freschezza

Sono stati campionati, durante il periodo considerato (settembre 2019-luglio 2022), 930 pesci di acqua dolce che sono stati prelevati in 100 sessioni di campionamento distribuite lungo tutto il periodo considerato, su questa attività ha gravato la situazione epidemiologica che ha fortemente limitato la possibilità in certi periodi (specialmente 2019-2020) il libero accesso presso la struttura Mercato Ittico di Milano. Gli esemplari campionati rappresentano quanto era disponibile in vendita durante i sopralluoghi relativamente alle produzioni dulciacquicole al mercato ittico di Milano. Sono state campionate 18 specie ittiche: abramide (*Abramis brama*), agone (*Alosa agone* varietà lacustre), alborella (*Alburnus alborella*), anguilla (*Anguilla anguilla*), carassio (*Carassius carassius*), carpa (*Cyprinus carpio*), cheppia (*Alosa agone* (varietà lacustre)), coregone (*Coregonus macrophthalmus*), latterino (*Atherina* spp.), luccio (*Esox lucius*), lucioperca (*Sander lucioperca*), persico sole (*Lepomis gibbosus*), pesce gatto (*Ameiurus melas*), pesce persico (*Perca fluviatilis*), scardola (*Scardinius erythrophthalmus*), siluro (*Silurus glanis*), tinca (*Tinca tinca*), trota fario (*Salmo trutta fario*).

La specie più rappresentata è il latterino (440 soggetti, pari al 47.3%), pesce persico (150 soggetti, pari al 16.1%), coregone (104 soggetti, pari al 11.2%). Seguono cheppia (45 soggetti, 4.8%), carassio (68 soggetti, 7.3%), carpa (34 soggetti, 3.7%).

Specie	Soggetti campionati (n)	Soggetti campionati sul totale (%)
Abramide	13	1,4
Agone	15	1,6
Alborella	15	1,6
Anguilla	5	0,5
Carassio	68	7,3
Carpa	34	3,7
Cheppia	45	4,8
Coregone	104	11,2
Latterino	440	47,3
Luccio	4	0,4
Lucioperca	11	1,2
Persico sole	2	0,2
Pesce gatto	4	0,4
Pesce persico	150	16,1
Scardola	6	0,6
Siluro	3	0,3
Tinca	7	0,8
Trota fario	4	0,4
Totale	930	100,0

Tab. 1: Numero e relativa percentuale dei soggetti campionati

La valutazione della freschezza nei pesci dulciacquicoli considerati è stata condotta valutando la consistenza delle carni e l'odore in assenza di schemi QIM applicabili e di criteri individuati a livello legislativo.

Per quanto concerne la consistenza, il 47,7% dei campioni esaminati (n=444) presentava rigor mortis; il 47,1% (n=438) aveva una consistenza soda, mentre il 4% (n=37) consistenza elastica; erano presenti in totale 11 pesci vivi (5 carassi, 5 anguille, 1 carpa). I carassi e la carpa erano vivi e mantenuti a temperatura di refrigerazione senza la presenza di acqua.

Per quanto concerne l'odore, non si sono presentati odori definibili di stato di "alterazione" come fecaloide o ammoniacale. Gli odori riscontrati sono stati tipici per la specie considerata senza note anomale apprezzabili. Nei pesci di acqua dolce infatti è presente una significativa differenza in termini di percezione dell'odore che

può essere dipendente in maniera stretta dal genere o dalla specie considerata e dall'ambiente dove gli animali vivono.

	Rigor mortis	Soda	Elastica	Vivo	Totale
Abramide	0* (0%)^ (0%)§ (0%)”	7 (54%) (2%) (1%)	6 (46%) (16%) (1%)	0 (0%) (0%) (0%)	13(1%)
Agone	15 (100%) (3%) (2%)	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	15(2%)
Alborella	14 (93%) (3%) (2%)	1 (7%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	15(2%)
Anguilla	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	5 (100%) (45%) (1%)	5(1%)
Carassio	8 (12%) (2%) (1%)	37 (54%) (8%) (4%)	18 (26%) (49%) (2%)	5 (7%) (45%) (1%)	68(7%)
Carpa	24 (71%) (5%) (3%)	9 (26%) (2%) (1%)	0 (0%) (0%) (0%)	1 (3%) (9%) (0%)	34(4%)
Cheppia	13 (29%) (3%) (1%)	29 (64%) (7%) (3%)	3 (7%) (8%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	45(5%)
Coregone	50 (48%) (11%) (5%)	54 (52%) (12%) (6%)	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	104(11%)
Latterino	262 (60%) (59%) (28%)	176 (40%) (40%) (19%)	2 (0%) (5%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	440(47%)
Luccio	0 (0%) (0%) (0%)	4 (100%) (1%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	4(0%)
Lucioperca	0 (0%) (0%) (0%)	5 (45%) (1%) (1%)	6 (55%) (16%) (1%)	0 (0%) (0%) (0%)	11(1%)
Persico sole	0 (0%) (0%) (0%)	2 (100%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	2(0%)
Pesce gatto	4 (100%) (1%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	4(0%)
Pesce persico	48 (32%) (11%) (5%)	100 (67%) (23%) (11%)	2 (1%) (5%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	150(16%)
Scardola	0 (0%) (0%) (0%)	6 (100%) (1%) (1%)	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	6(1%)
Siluro	0 (0%) (0%) (0%)	3 (100%) (1%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	3(0%)
Tinca	4 (57%) (1%) (0%)	3 (43%) (1%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	7(1%)
Trota fario	2 (50%) (0%) (0%)	2 (50%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	4(0%)
Totale	444(48%)	438(47%)	37(4%)	11(1%)	

Tab. 2: Consistenza delle carni per singola specie.

*Laddove presenti valori espressi in percentuale, nelle tabelle gli stessi sono stati arrotondati in eccesso o in difetto al numero intero più vicino.

□ Legenda:

$X^* (X\%)^{\wedge}$	X^* num. soggetti - $(X\%)^{\wedge}$ % di riga
$(X\%)^{\S} (X\%)^{\text{”}}$	$(X\%)^{\S}$ % di colonna - $(X\%)^{\text{”}}$ Percentuale sul totale dei soggetti

3.2. Riconoscimento e conferma di specie

Tutti i soggetti campionati sono stati soggetti a riconoscimento morfologico di specie per la conferma della stessa procedendo al confronto con quanto dichiarato nell’etichettatura. Tutti i 930 soggetti delle 18 specie campionante sono risultati conformi. Le denominazioni prese come riferimento sono quelle contenute nel Decreto Ministeriale n°19105 del 22 settembre 2017 - Denominazioni in lingua italiana delle specie ittiche di interesse commerciale: esse hanno dimostrato conformità di tipo legale.

3.3 Provenienze

Il campionamento delle specie dulciacquicole effettuato presso il mercato ittico di Milano ha coinvolto 7 Paesi europei: Croazia, Danimarca, Estonia, Francia, Italia, Spagna, Svezia. Il Paese più rappresentato dopo l'Italia, che rappresenta da sola il 92,8% (863 esemplari), è la Danimarca con 3,1%, seguita dalla Spagna con l'1,9%; all'ultimo posto è collocata la Francia con lo 0,2%.



Legenda:


Paese, 100  Quantità totale di campioni esaminati
N° totale di campioni esaminati

Fig. 3: Distribuzione provenienze europee e relativi bacini idrici

	Croazia	Danimarca	Estonia	Francia	Italia	Spagna	Svezia	TOT ·
Abramide	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	13 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	13 (1%)
	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(2%) (1%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	
Agone	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	15 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	15 (2%)
	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(2%) (2%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	
Alborella	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	15 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	15 (2%)
	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(2%) (2%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	
Anguilla	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	5 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	5 (1%)
	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(1%) (1%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	
Carassio	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	68 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	68 (7%)
	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(8%) (7%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	
Carpa	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	16 (47%)	18 (53%)	0 (0%)	34 (4%)
	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(2%) (2%)	(100%) (2%)	(0%) (0%)	
Cheppia	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	45 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	45 (5%)
	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(5%) (5%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	
Coregone	0 (0%)	2 (2%)	0 (0%)	0 (0%)	102 (98%)	0 (0%)	0 (0%)	104 (11%)
	(0%) (0%)	(7%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(12%) (11%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	
Latterino	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	440 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	440 (47%)
	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(51%) (47%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	
Luccio	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (25%)	0 (0%)	3 (75%)	4 (0%)
	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(38%) (0%)	
Lucioperca	0 (0%)	5 (45%)	6 (55%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	11 (1%)

	(0%) (0%)	(17%) (1%)	(100%) (1%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	
Persico sole	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	2 (100%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	2 (0%)
Pesce gatto	4 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	4 (0%)
	(100%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	
Pesce persico	0 (0%)	22 (15%)	0 (0%)	0 (0%)	123 (82%)	0 (0%)	5 (3%)	150 (16%)
	(0%) (0%)	(76%) (2%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(14%) (13%)	(0%) (0%)	(62%) (1%)	
Scardola	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	6 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	6 (1%)
	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(1%) (1%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	
Siluro	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (0%)
	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	
Tinca	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	7 (100%) (1%) (1%)	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	7 (1%)
Trota fario	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (50%)	2 (50%)	0 (0%)	0 (0%)	4 (0%)
	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(100%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	
TOTALE	4(0%)	29(3%)	6(1%)	2(0%)	863 (93%)	18(2%)	8(1%)	

Tab. 3: Provenienze per singole specie (*, □)

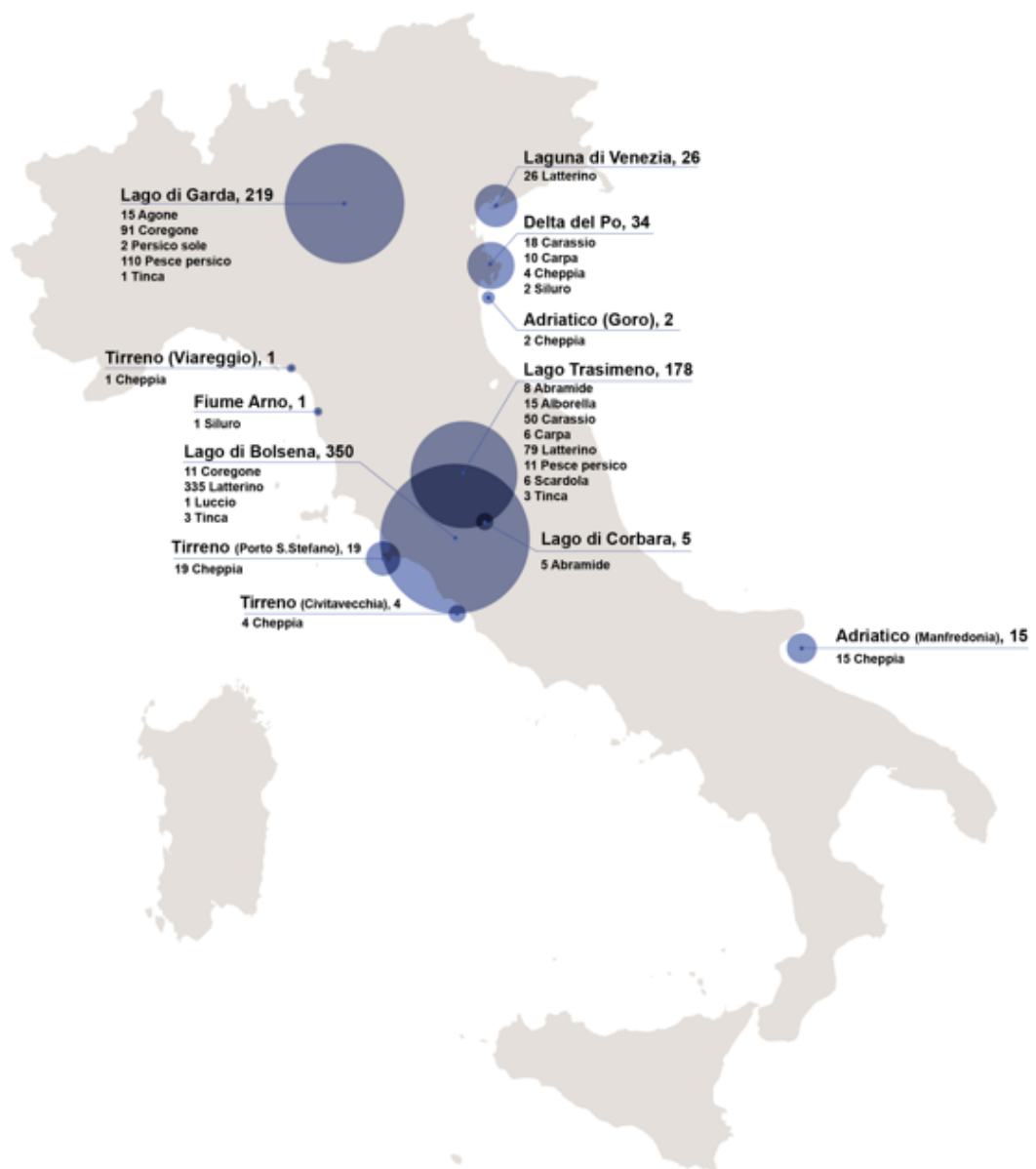


Fig. 4: Distribuzione provenienze nazionali e relativi bacini idrici

I bacini di provenienza dei soggetti campionati sono 19; per quanto riguarda le specie anadrome (cheppia), sono presenti il mar Adriatico, Sbarco di Goro, Manfredonia, mentre per quanto riguarda il mar Tirreno sono presenti Viareggio, Porto Santo Stefano, Civitavecchia.

Di seguito vengono elencati i bacini idrici di prelievo.

- Italia: lago di Bolsena (Lazio), lago di Corbara (Umbria), lago di Garda (Lombardia – Veneto), lago di Lugano (Lombardia - Svizzera), lago Trasimeno (Umbria), Delta del Po (Veneto), fiume Arno (Toscana) e territorio lagunare di Venezia (Veneto).
- Spagna: lago di Albufera (Valencia – Parco Naturale di Albufera).
- Svezia: lago di Hjälmarén (IV lago svedese)
- Al confine tra Estonia e Russia: lago di Peipsi (V lago d'Europa)
- Danimarca: FAO 27.IIIId - Oceano Atlantico - Mar Baltico, FAO 27.IV - Oceano Atlantico - Mare del Nord per le specie luccio e pesce persico che vivono nelle aree a bassa salinità.

3.4 Attrezzi di pesca

I dati riguardanti le metodiche di pesca utilizzate per il campione preso in esame evidenziano la presenza di 3 tipologie di attrezzo: nasse, reti da imbrotto, reti da traino. La metodica più utilizzata sono le reti da imbrotto (47%, 437 soggetti pescati) e le nasse (46.1%, 429 soggetti pescati). I pesci allevati erano 18 provenienti da Italia, Danimarca, Francia.

	Non noto	Nasse	Reti da imbrotto	Reti da traino	TOT. n (%)
Abramide	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	13 (100%) (3%) (1%)	0 (0%) (0%) (0%)	13(1%)
Agone	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	15 (100%) (3%) (2%)	0 (0%) (0%) (0%)	15(2%)
Alborella	0 (0%) (0%) (0%)	15 (100%) (3%) (2%)	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	15(2%)
Anguilla	5 (100%) (28%) (1%)	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	5(1%)
Carassio	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	68 (100%) (16%) (7%)	0 (0%) (0%) (0%)	68(7%)
Carpa	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	34 (100%) (8%) (4%)	0 (0%) (0%) (0%)	34(4%)
Cheppia	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	45 (100%) (98%) (5%)	45(5%)
Coregone	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	104 (100%) (24%) (11%)	0 (0%) (0%) (0%)	104(11%)
Latterino	0 (0%) (0%) (0%)	414 (94%) (97%) (45%)	26 (6%) (6%) (3%)	0 (0%) (0%) (0%)	440(47%)
Luccio	0 (0%) (0%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	4 (100%) (1%) (0%)	0 (0%) (0%) (0%)	4(0%)
Lucioperca	5 (45%)	0 (0%)	6 (55%)	0 (0%)	11(1%)

	(28%) (1%)	(0%) (0%)	(1%) (1%)	(0%) (0%)	
Persico sole	0 (0%)	0 (0%)	2 (100%)	0 (0%)	2(0%)
	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	
Pesce gatto	4 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	4(0%)
	(22%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	
Pesce persico	0 (0%)	0 (0%)	149 (99%)	1 (1%)	150(16%)
	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(34%) (16%)	(2%) (0%)	
Scardola	0 (0%)	0 (0%)	6 (100%)	0 (0%)	6(1%)
	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(1%) (1%)	(0%) (0%)	
Siluro	0 (0%)	0 (0%)	3 (100%)	0 (0%)	3(0%)
	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(1%) (0%)	(0%) (0%)	
Tinca	0 (0%)	0 (0%)	7 (100%)	0 (0%)	7(1%)
	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(2%) (1%)	(0%) (0%)	
Trota fario	4 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	4(0%)
	(22%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	(0%) (0%)	
TOTALE	18(2%)	429(46%)	437(47%)	46(5%)	

Tab. 4: Attrezzi di pesca per singola specie (*, □)

	Peso (g)	Lunghezza (cm)
Abramide	730±185	39±3
Agone	113±30	24±2
Alborella	15±4	12±1
Anguilla	49±1	197±3
Carassio	1261±1062	33±3
Carpa	847±570	37±8
Cheppia	420±216	35±6
Coregone	333±213	34±6
Latterino	3±1	8±5
Luccio	7060	68±21
Lucioperca	1641±764	52±6
Persico sole	100±0	20±0
Pesce gatto	108±30	20±2
Pesce persico	334±321	26±4
Scardola	159±99	21±5
Siluro	5970±5269	77±3
Tinca	1370±594	42±7
Trota fario	648±306	48±18

Tab. 5: Informazioni biometriche dei soggetti campionati

3.5 Parassiti

Valutando la presenza di parassiti “visibili” (Bao, 2019), applicando la definizione contenuta nel Reg. (CE) 2074/2005, si evince che il 4,7% dei pesci campionati al mercato ittico di Milano riportava la loro presenza. La specie percentualmente più parassitata è stata la cheppia con il 48.9% degli esemplari parassitati, se non consideriamo i 3 lucci parassitati dei 4 campionati. Seguono i pesci persici con il 10,7%, la carpa con il 2,9% e il latterino 0,5% (2 ritrovamenti su 438 esemplari).

Se valutiamo le 18 specie campionate, 5 di esse hanno mostrato la presenza di parassiti visibili.

Il 50% dei soggetti parassitati appartiene alla specie cheppia, il 36% al pesce persico, il 7% al luccio. Le cheppie e i pesci persici parassitati rappresentano ognuna il 2% di tutti i pesci campionati.

La localizzazione dei parassiti riscontrata ha un effetto diretto con il potenziale impatto che può avere sulla gestione del “rischio” per la sua effettiva ingestione. Solo l’11,4 % dei parassiti ha una localizzazione muscolare (nello specifico 5 parassiti del genere *Eustrongylidae*, dotato di un basso livello zoonotico). In ogni caso non va in ogni modo sottovalutata la presenza del parassita “visibile” che è normato dalla Reg. (CE) 2074/2005.

Di seguito è riportata una tabella (Tab. 6) con il numero di parassiti per pesce infestato, tutti i valori presenti in tabella sono arrotondati all’unità.

	Soggetti privi di parassiti	Soggetti parassitati	TOT. n (%)
Abramide	13 (100%)	0 (0%)	13(1%)
	(1%) (1%)	(0%) (0%)	
Agone	15 (100%)	0 (0%)	15(2%)
	(2%) (2%)	(0%) (0%)	
Alborella	15 (100%)	0 (0%)	15(2%)
	(2%) (2%)	(0%) (0%)	
Anguilla	5 (100%)	0 (0%)	5(1%)
	(1%) (1%)	(0%) (0%)	
Carassio	68 (100%)	0 (0%)	68(7%)
	(8%) (7%)	(0%) (0%)	
Carpa	33 (97%)	1 (3%)	34(4%)
	(4%) (4%)	(2%) (0%)	
Cheppia	23 (51%)	22 (49%)	45(5%)
	(3%) (2%)	(50%) (2%)	
Coregone	104 (100%)	0 (0%)	104(11%)
	(12%) (11%)	(0%) (0%)	
Latterino	438 (100%)	2 (0%)	440(47%)
	(49%) (47%)	(5%) (0%)	
Luccio	1 (25%)	3 (75%)	4(0%)
	(0%) (0%)	(7%) (0%)	
Lucioperca	11 (100%)	0 (0%)	11(1%)
	(1%) (1%)	(0%) (0%)	
Persico sole	2 (100%)	0 (0%)	2(0%)
	(0%) (0%)	(0%) (0%)	
Pesce gatto	4 (100%)	0 (0%)	4(0%)
	(0%) (0%)	(0%) (0%)	
Pesce persico	134 (89%)	16 (11%)	150(16%)
	(15%) (14%)	(36%) (2%)	

Scardola	6 (100%)	0 (0%)	6(1%)
	(1%) (1%)	(0%) (0%)	
Siluro	3 (100%)	0 (0%)	3(0%)
	(0%) (0%)	(0%) (0%)	
Tinca	7 (100%)	0 (0%)	7(1%)
	(1%) (1%)	(0%) (0%)	
Trota fario	4 (100%)	0 (0%)	4(0%)
	(0%) (0%)	(0%) (0%)	
TOTALE n (%)	886(95%)	44(5%)	930 (100%)

Tab. 6: prevalenza di parassiti nei soggetti campionati, suddivisi per specie “parassiti visibili” (*, □)

Tutti i parassiti riscontrati erano localizzati nella cavità celomatica, ad eccezione di alcuni riscontrati nel pesce persico.



Fig. 5: Speratura di filetti effettuata presso il Mercato Ittico di Milano

Nella valutazione della presenza di parassiti visibili riscontrati, la loro localizzazione diventa un dato utile nel valutare l'impatto che può avere nei confronti del consumatore finale. In 39 dei 44 soggetti parassitati, i parassiti si trovavano a livello di cavità celomatica. Solo 5 parassiti nel pesce persico erano localizzati a livello di muscolatura, mentre negli altri 11 pesci persici parassitati i parassiti si trovavano in cavità celomatica (Tab. 7).

Specie	Soggetti con parassiti in cavità celomatica (n) – (n %)	Soggetti con parassiti con localizzazione muscolare (n) – (n%)	Totale (n)
Carpa	1 (100%)	0 (0%)	1
Cheppia	22 (100%)	0 (0%)	22
Latterino	2 (100%)	0 (0%)	2
Luccio	3 (100%)	0 (0%)	3
Pesce persico	11 (68,8 %)	5 (31,%)	16
Totale (n)	39	5	44
TOT. (%)	88,6	11,4	100

Tab. 7: Localizzazione parassitaria

Pesce	Parassiti per pesce parassitato (n)
Carpa (n=1)	15
Cheppia (n=22)	14±12
Latterino (n=2)	1±1
Luccio (n=3)	3±1
Pesce persico (n=16)	2±1

Tab. 8: Numero di ritrovamenti e intensità media cumulativa

	Primavera	Estate	Autunno	Inverno
Non parassitati	8	13	0	2
Parassitati	4	8	8	2

Tab. 9: Incidenza dei soggetti parassitati per cheppie suddivisa per stagione

	Primavera	Estate	Autunno	Inverno
Non parassitati	46	19	30	39
Parassitati	5	1	4	6

Tab. 10: Incidenza dei soggetti parassitati per pesci persici suddivisa per stagione

Da un'analisi statistica dei dati emerge che il peso dei pesci persici parassitati era significativamente inferiore rispetto ai persici non parassitati (214 ± 80 vs 348 ± 336 g, $p < 0.001$, t-test) mentre la lunghezza era simile (25 ± 4 vs 26 ± 4 , $p = 0.50$, t-test). Non è stata riscontrata nessuna evidente associazione tra la stagione di pesca e l'incidenza di pesci parassitati.

Specie	<i>Anisakidi</i>	<i>Caryophyllidea</i> spp.	<i>Eustrongylides</i>	<i>Triakonophorus</i>	Soggetti parassitati (n)	Totale soggetti campionati (n)	Prevalenza di soggetti parassitati (%)	Prevalenza <i>Eustrongylides</i> sp. (%)	<i>Eustrongylides</i> sp. sul totale dei soggetti parassitati (%)	Prevalenza <i>Triakonophorus</i> sp.	<i>Triakonophorus</i> sp. sul totale dei soggetti parassitati (%)
Carpa	-	1	-	-	1	34	2,9	-	-	-	-
Cheppia	22	-	-	-	22	45	48,9	-	-	-	-
Latterino	-	-	2	-	2	440	0,5	0,5	100	-	-
Luccio	-	-	-	3	3	4	75,0	-	-	75	100
Pesce persico	-	-	11	5	16	150	10,7	7,3	68,8	3,3	31,3
Totale	22	1	13	8	44	673	6,5	1,9	29,5	1,2	18,2

Tab. 11: Dettaglio dei parassiti riscontrati

Eustrongylides

	Lago di Garda	Lago Trasimeno	Totale complessivo
Latterino (n° parassiti)	-	2	2
Pesce persico (n° parassiti)	9	2	11
Totale Latterini campionati	-	79	13
Totale Pesce persici campionati	110	11	-
Prevalenza <i>Eustrongylides</i> Latterini (%)	0	2,5	-
Prevalenza <i>Eustrongylides</i> Pesce persico (%)	8,2	18,2	-

Tab. 12: Ritrovamenti di *Eustrongylidi* nei bacini dei laghi di Garda e Trasimeno

Durante il controllo visivo autoptico degli esemplari di latterino è stata messa in evidenza la presenza di larve di *Eustrongylides*: questa può essere sospettata tramite l'individuazione di elementi cutanei rossastri visibili in sede ispettiva sulla superficie cutanea, in accordo con quanto segnalato da Franceschini nel 2021.

In totale sono stati riscontrati 11 pesci persici infestati. 9 di questi erano stati pescati nel lago di Garda e 2 nel lago Trasimeno. Le prevalenze riscontrate raggiungono l'8,2% nel pesce persico del lago di Garda e il 20% del lago Trasimeno. Per quanto riguarda il campione esaminato, sono stati sottoposti a verifica 110 esemplari del lago di Garda e un numero sensibilmente inferiore del lago Trasimeno (10 esemplari).

Per quanto riguarda la presenza dei ritrovamenti nei latterini sono stati riscontrati 2 latterini su 79 controllati, con una prevalenza del 2,5% (Tab. 12).

Tutti i soggetti di pesce persico presentavano una localizzazione del parassita nel quadrante cranio-ventrale.



Fig. 6: Particolare riscontro di *E. excisus* in filetto di pesce persico



Fig. 7: *E. excisus* nella muscolatura di pesce persico

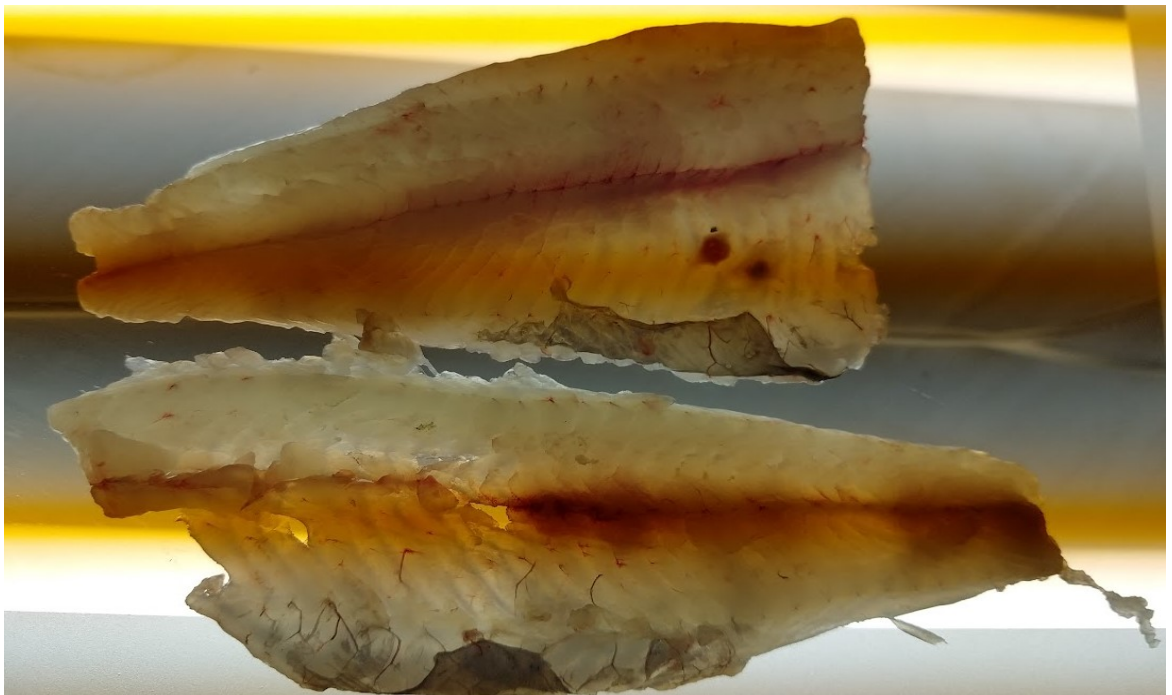


Fig. 8: Speratura di filetti di pesce persico con evidenziazione di larve di *E. excisus*

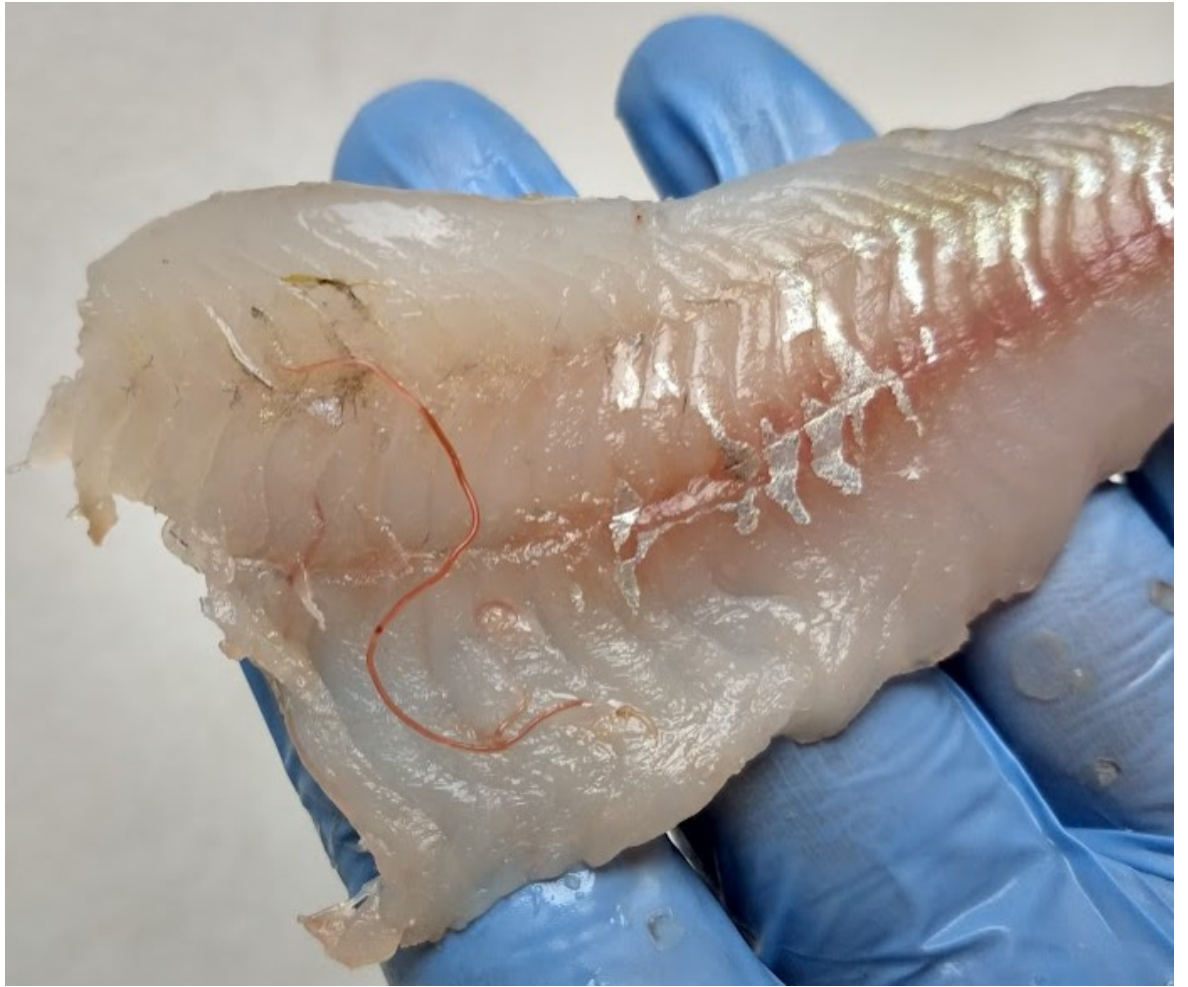


Fig. 9: Particolare macroscopico di *E. excisus* in pesce persico

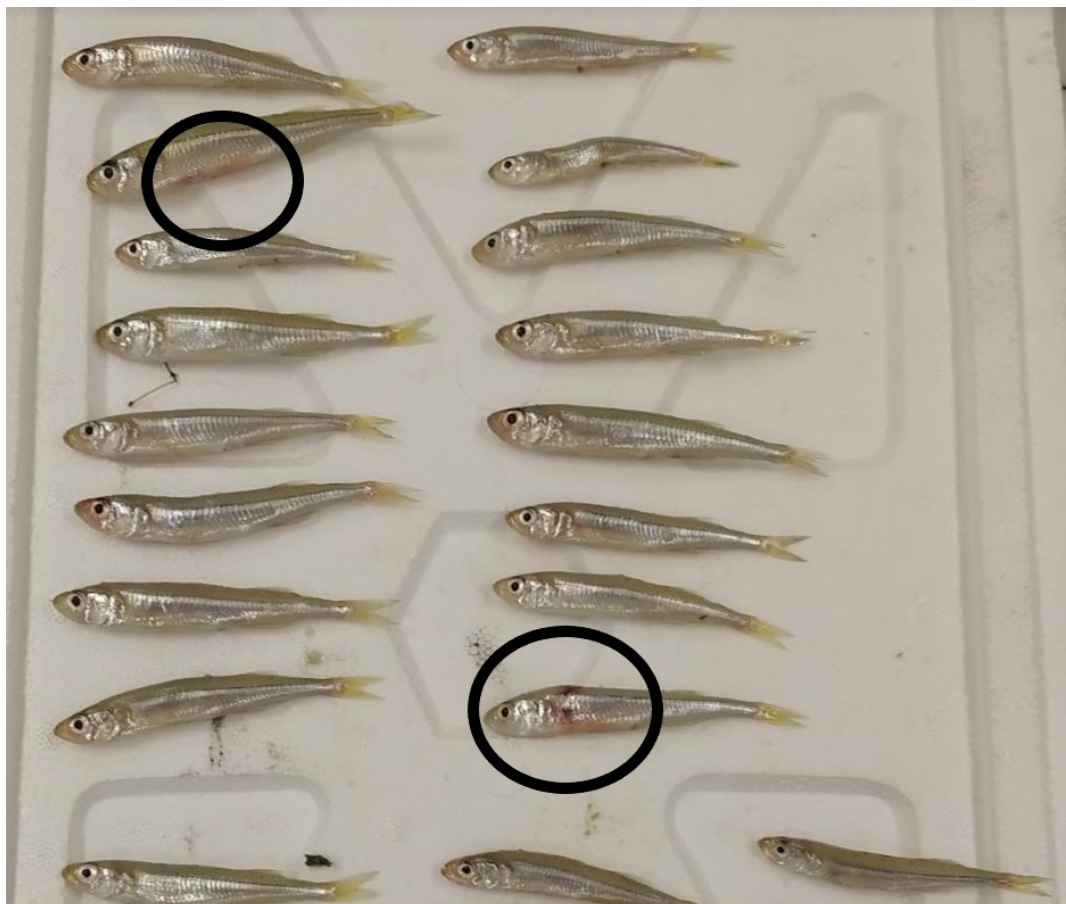


Fig. 10: Latterini (*Atherina boyeri*) del lago Trasimeno. I cerchi identificano i due soggetti dove l'area rosata si trova in corrispondenza di larve di *E. excisus*



Fig. 11: Particolare di localizzazione di *E. excisus* in latterino (*Atherina boyeri*)

Per quanto riguarda i parassiti visibili ritrovati durante il periodo di indagine sono stati morfologicamente identificati come larve appartenenti al genere *Eustrongylides*.

Per quanto concerne i parassiti provenienti dal lago Trasimeno, le sequenze ITS (Genbank Accession Nrs OK380960-61) ottenute da un sottoinsieme di larve identificate molecolarmente dal muscolo del pesce persico hanno presentato un'identità del 100% con le sequenze di *E. excisus* mediante l'analisi BLASTsu GenBank, confermando la presenza di questa specie (Mazzone, 2019). Questa operazione è stata svolta all'Università degli Studi di Perugia – Dipartimento di Medicina Veterinaria – Prof.ssa Branciarì Raffaella. Per quanto riguarda gli *Eustrongylides* ritrovati nel lago di Garda, considerando lo studio di Menconi e collaboratori (2021) e considerando anche il periodo di esecuzione dei prelevamenti oggetto dello studio, si considera fortemente probabile che anche in questo caso la specie in causa sia *E. excisus*, unica specie segnalata in Italia.

Caryophyllidea spp.

In una sola carpa pescata nel Lago Trasimeno è stata riscontrata la presenza di un'infestazione (15 parassiti) di un *Caryophyllidea* nella porzione intestinale del soggetto. Questo è stato l'unico ritrovamento in tutte le 34 carpe campionate (2.9%), di cui 5 provenivano dal Lago Trasimeno (20%).

Paese	Zona di pesca	di Soggetti campionati	Soggetti parassitati	Parassiti (n)	Tipologia di parassita
Italia	Lago Trasimeno	6	0	15	<i>Caryophyllidea</i>
Spagna	Lago di Albufeira	18	0	0	
Italia	Delta del PO	10	0	0	

Tab. 13: Dettaglio ritrovamenti in carpe

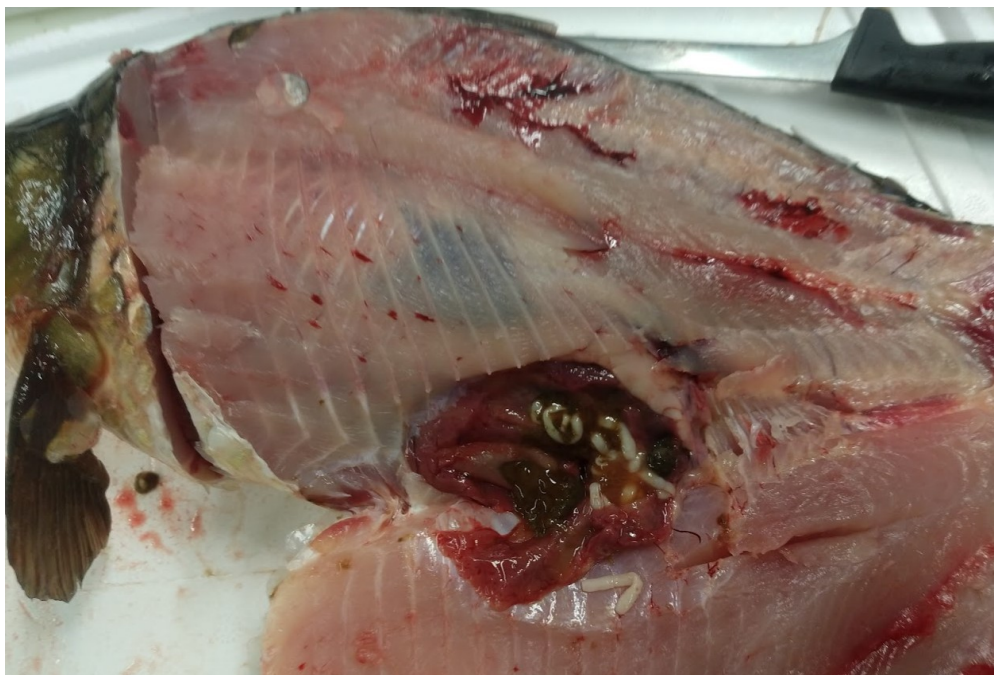


Fig. 12: Cavità celomatica di carpa (*Ciprinus carpio*) e messa in evidenza di *Caryophylloidei*

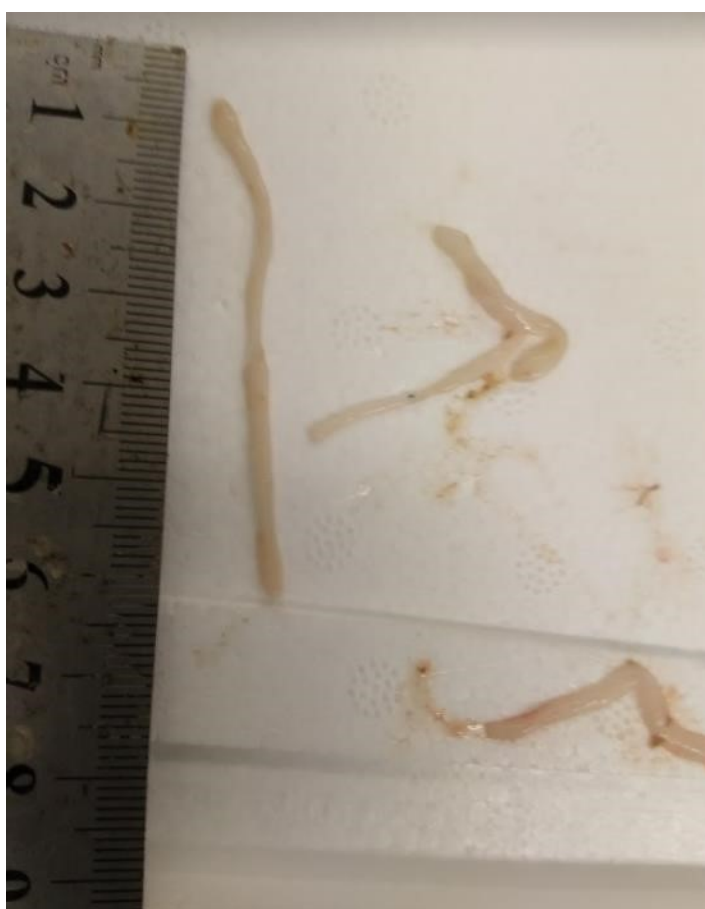


Fig. 13: *Caryophylloidea*



Fig. 14: *Caryophylloidei* riscontrati in una carpa pescata nel lago Trasimeno

Il cestode della carpa è morfologicamente ascrivibile a *Khawia* sp. (*Caryophyllidea*), in particolare *K. sinensis* che risulta essere una specie riportata anche nella carpa (Barčák, 2019).

I ritrovamenti riferiti al soggetto pescato nel lago Trasimeno sono stati identificati grazie alle chiavi di identificative (Oros, 2010; Scholz, 2011).

Morfologicamente, *K. sinensis* possiede uno scolice che ricorda la forma di una foglia di trifoglio e un corpo non segmentato lungo circa 8-17 cm (Kirsch, 2020).



Fig. 15: Dettaglio al microscopio ottico di *Caryophylloidei* in carpe

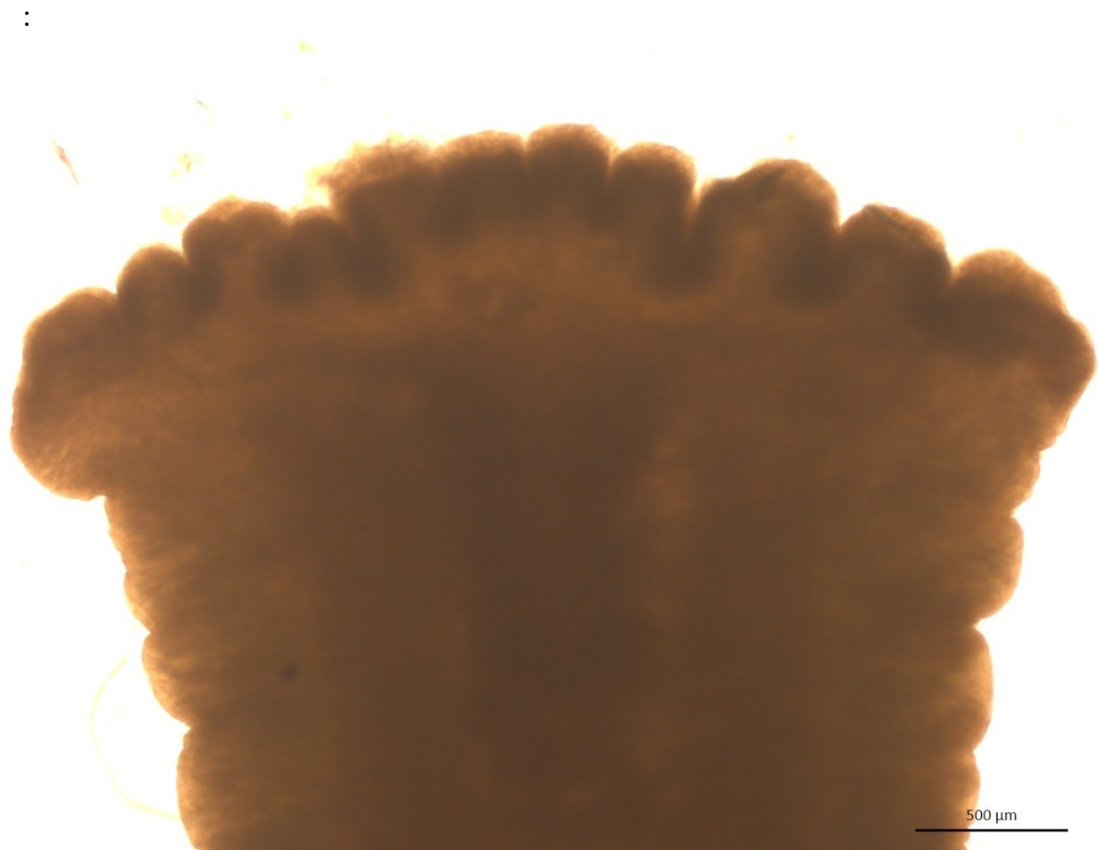


Fig. 16: Dettaglio al microscopio ottico di *Caryophylloidei* in carpe

Specie	Oc. Atlantico - Mare del Nord	Oc. Atlantico - Mar Baltico	Lago di Bolsena	Lago di Garda	Lago Hylmaren	Totale
Luccio	0	0	1	0	2	3
Pesce persico	1	0	0	3	1	5
Totale ritrovamenti	1	0	1	3	3	8
Numero totale soggetti Luccio	0	0	1	0	3	4
Numero totale soggetti Pesce persico	16	9	0	110	2	137
Prevalenza Luccio (%)	-	0	100	-	66,7	75
Prevalenza Pesce persico (%)	6,3	0,0	-	2,7	50,0	3,6

Tab. 14: Bacini idrici e ritrovamenti *Triaenophorus*

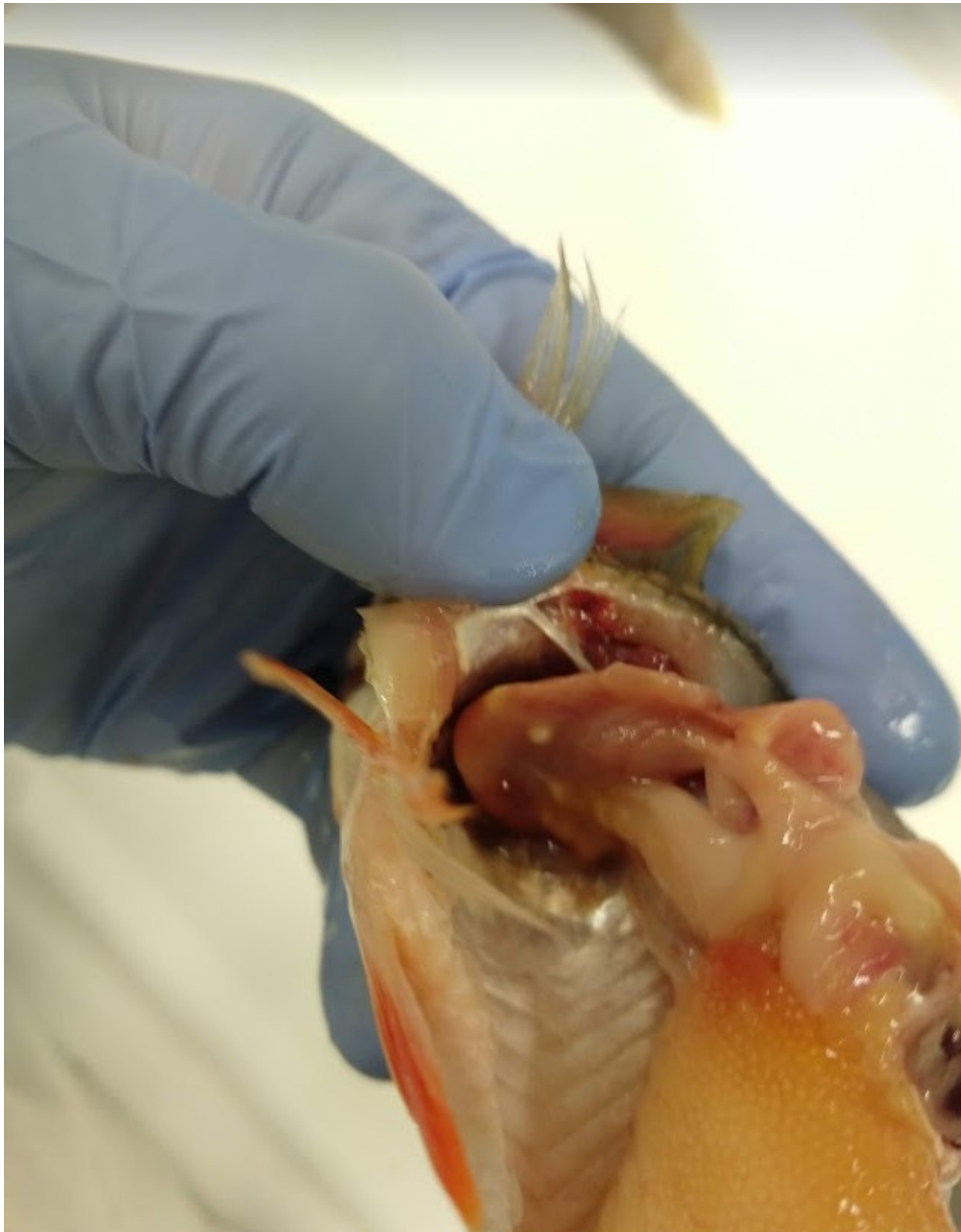


Fig. 17: Reperto macroscopico *T. nodulosus* in fegato di *P. fluviatilis*, visibile porzione di cavità celomatica.



Fig. 18: Reperto macroscopico *T. nodulosus* in fegato di *P. fluviatilis*



Fig. 19: *E. lucius* esaminato proveniente dal lago di Bolsena



Fig. 20: *T. nodulosus* adulto di *E. lucius* proveniente dal lago di Bolsena

L'esame parassitologico ha evidenziato la presenza di larve plerocercoidi nel fegato di *P. fluviatilis*, e di adulti all'interno della cavità celomatica di *E. lucius*.

Il riconoscimento dei parassiti, basato sulle caratteristiche morfometriche dello scolice e degli uncini, ha consentito di classificare i parassiti come appartenenti alla specie *T. nodulosus*.

Nell'adulto, lo scolice si caratterizza per una poco marcata separazione dallo strobilo e per la presenza di due botrie ovali accoppiate, ciascuna con due coppie di uncini

tridentati, formati da una piastra basale $0,028-0,038 \times 0,082-0,15 \mu\text{m}$), una punta centrale e due rebbi laterali (lunghezza media $0.065 \mu\text{m}$).

Lo strobilo può raggiungere la lunghezza di 400 mm e non presenta marcata separazione fra le singole proglottidi. All'interno i testicoli sono numerosi e di forma ovalare ed il cirro si presenta lungo all'interno della vescica seminale, che si apre lateralmente. L'ovario è bilobato laterale alla linea mediana.

Date le similarità anatomiche con *T. crassus*, il riconoscimento di *T. nodulosus* si è basato sulle differenze, seppur minime, riscontrate nello scolice e negli uncini. Infatti, mentre gli uncini presenti nello scolice di *T. crassus* sono più larghi, quelli di *T. nodulosus* si presentano più piccoli con la caratteristica punta mediana sugli uncini dello scolice.

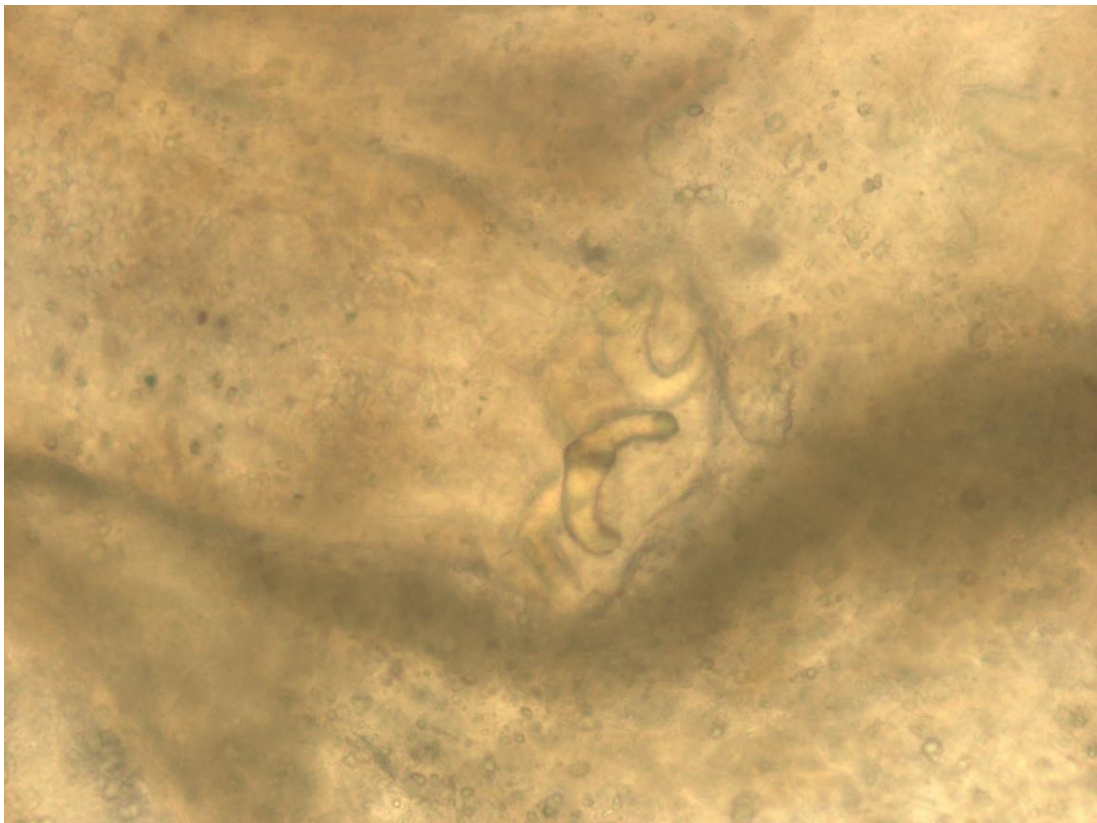


Fig. 21: Larva di *T. nodulosus* in *P. fluviatilis*



Fig. 22: Scolice di *T. nodulosus* adulto di *E. lucius*



Fig. 23 Scolice di *T. nodulosus* adulto di *E. lucius*

Le sezioni di fegato di *P. fluviatilis* ottenute, dello spessore di 5 μm , sono state osservate e fotografate al microscopio ottico, evidenziando la presenza di cisti contenenti larve plerocercoidi di *T. nodulosus*.

L'esame istologico ha evidenziato lesioni granulomatose, determinate dall'aggancio del parassita ai tessuti dell'ospite, con successiva risposta cellulare e formazione della parete delle cisti. Ogni formazione cistica documentata conteneva una singola larva, spesso avvolta su se stessa. La parete delle formazioni cistiche epatiche appariva caratterizzata da un sottile vallo di cellule macrofagiche ed epitelioidi circondato esternamente da una capsula fibrosa costituita da strati di fibroblasti.

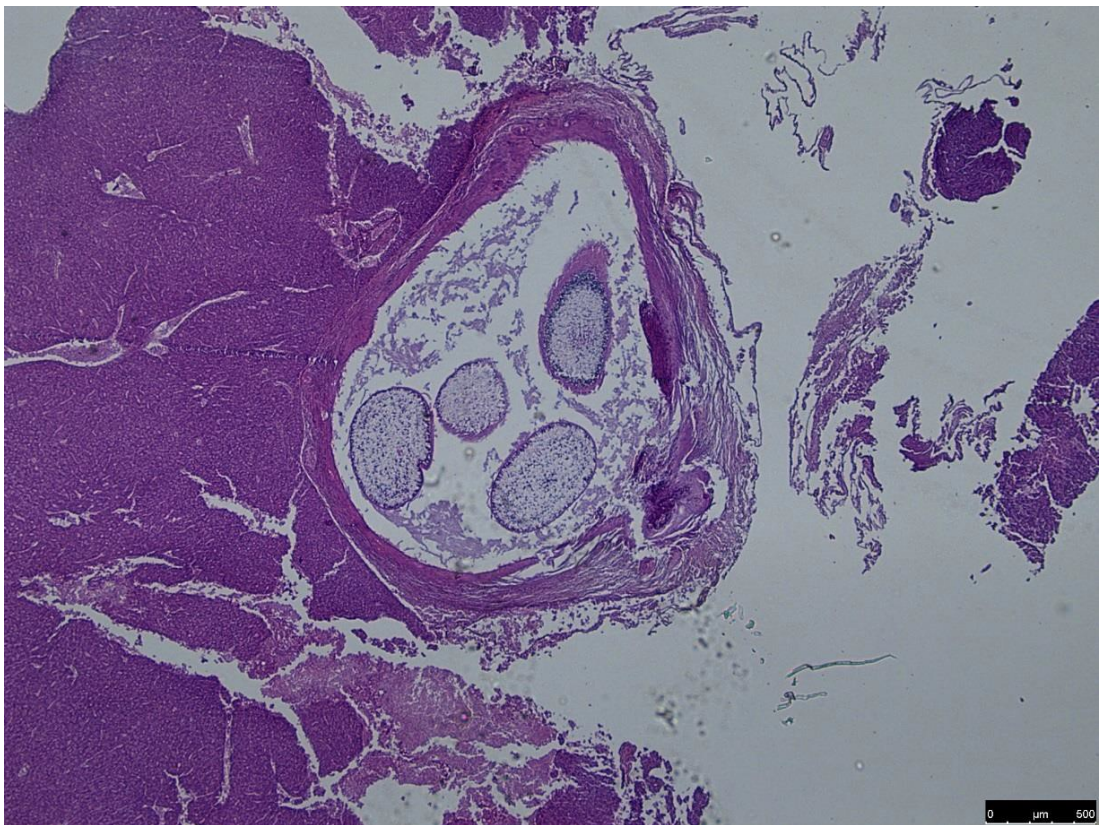


Fig. 24: Cisti contenente il parassita, evidenziata con la colorazione E/E



Fig. 25: cisti contenente il parassita, evidenziata con la colorazione E/E

Contraecaecum

La cheppia è un clupeide, una specie anadroma che è diffusa dalle coste atlantiche dall'Islanda meridionale e occidentale al Marocco settentrionale, compreso il Mare del Nord, il Mar Baltico, il Mar Mediterraneo, il Mar Nero.

Nell'ambito del progetto sono state campionate 45 Cheppie (*Alosa fallax nilotica*), provenienti dalla zona adriatica: laguna veneta, Manfredonia e tirrenica: Versilia (Viareggio), Porto Santo Stefano, Civitavecchia. Sono stati riscontrati 23 soggetti parassitati che rappresentano il 51% dei soggetti (Tab. 6). L'intensità media è pari a 14. Il riscontro è avvenuto nella cavità celomatica e nello specifico a livello di porzioni terminale del cieco e comunque a livello di tubo gastroenterico. Non sono stati riscontrati parassiti nei filetti. Da quanto riscontrato si evince che le cheppie parassitate tendevano ad avere un peso maggiore rispetto alle cheppie non parassitate (465 ± 242 vs 378 ± 183 g, $p=0.18$) con una lunghezza simile (36 ± 6 vs 35 ± 5 cm, $p = 0.48$).

L'esame parassitologico ha evidenziato di nematodi identificati come *Contracaecum* sp.: l'identificazione è stata possibile tramite opportune chiavi dicotomiche (Nagasawa, 2012). Probabilmente la specie coinvolta è *Contracaecum osculatum*, segnalato in *A. fallax*, ma questo necessita di esami molecolari attualmente in corso.



Fig. 26: Vista macroscopica *Contracaecum* sp. con tipica localizzazione



Fig. 27: Dettaglio macroscopico *Contracaecum* sp. con tipica localizzazione



Fig. 28: Porzione craniale di larva L3 di *Contracaecum* in cheppia: dettaglio al microscopio (5x)



Fig. 29: Porzione craniale di larva L3 di *Contracaecum* in cheppia al microscopio (5x)

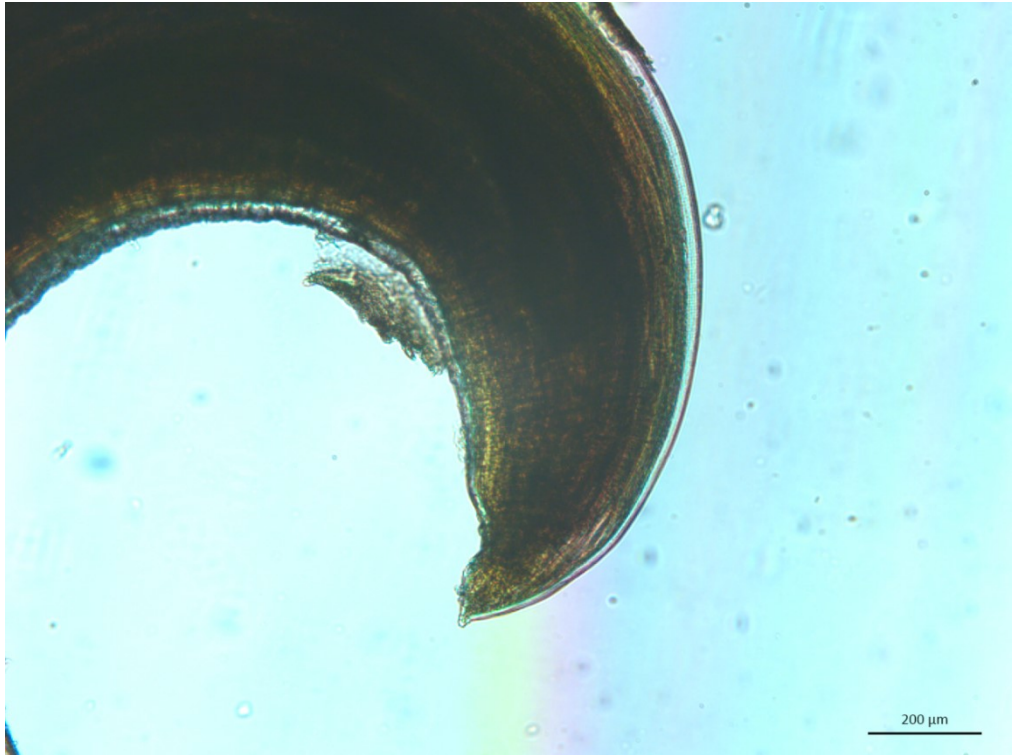


Fig. 30: Porzione caudale di larva L3 di *Contracaecum* in cheppia al microscopio
(5x)

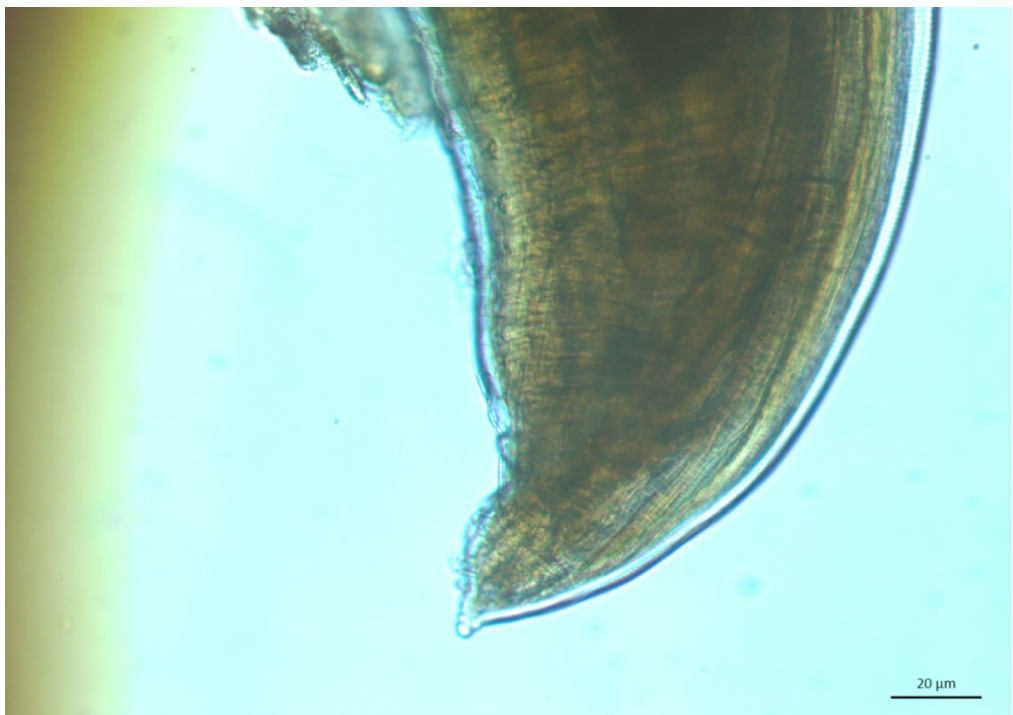


Fig. 31: Porzione caudale di larva L3 di *Contracaecum* in cheppia al microscopio
(5x)



Fig. 32: Porzione craniale di larva L3 di *Contracaecum* in cheppia al microscopio (10x)

***Hysterothylacium incurvum*:**

Per quanto concerne il ritrovamento di *Hysterothylacium*, sono stati campionati 364 cuori da pesci spada provenienti dall'Oceano Atlantico di cui si forniscono di seguito i dettagli:

- 193 esemplari pescati in Atlantico Nord Orientale FAO 27.IXa (Acque portoghesi), peso medio di 50,5 Kg \pm 36,9Kg e lunghezza media di 160 cm \pm 37, 8 cm;
- 171 esemplari pescati in Atlantico Centro-Orientale FAO 34, peso medio di 39,1 Kg \pm 11,2Kg e lunghezza media di 155,3 cm \pm 14.5 cm.

In 3 esemplari (P=1,55%) provenienti dalle acque portoghesi è emersa la presenza di nematodi sub-adulti e adulti all'interno delle camere cardiache, tra bulbo arterioso e ventricolo.

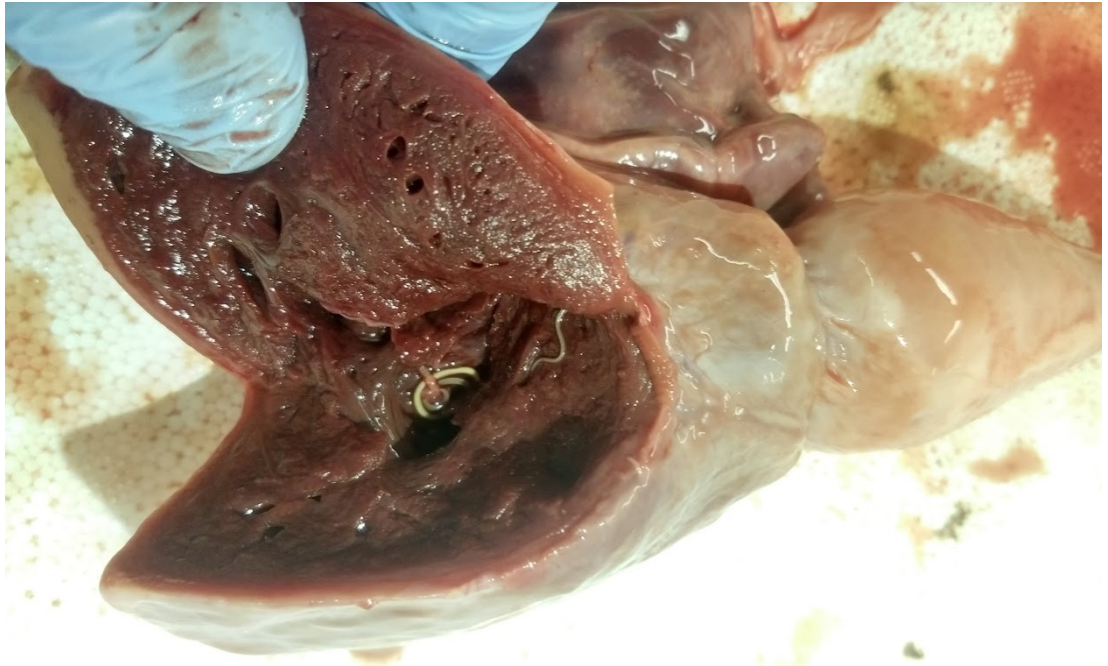


Fig. 33 : Sezione di cuore di pesce spada con presenza di *Hysterothylacium*



Fig. 34: *Hysterothylacium* prelevato da cuore di pesce spada campionato nel corso dello studio



Fig. 35: *Hysterothylacium* da cuore di pesce spada al microscopio ottico



Fig. 36: *Hysterothylacium* dettaglio

Dopo l'osservazione al microscopio ottico effettuata con le opportune chiavi identificative (Bruce, 1989), su alcuni esemplari sono state fatte indagini molecolari. I risultati hanno rivelato l'appartenenza al genere *Hysterothylacium* per tutti e tre i marcatori utilizzati, con una percentuale di identità del 98.7% per ITS, (E-value 0.0, query cover 99%); del 97% per rrnS (E-value 1e-176, query cover 97%); per il marcatore Cox2, i risultati di similarità con algoritmo BLAST hanno mostrato una percentuale di identità del 97% con *H. incurvum* (E-value 0.0, query cover 93%). Tra i tre marcatori utilizzati, il Cox2 è stato l'unico a permettere l'identificazione di specie, non confermata dagli altri a causa della mancanza di sequenze ITS e rrnS presenti in GenBank per la specie *H. incurvum*.

3.6 Alterazioni fisiopatologiche

	Fango branchiale (n)	Abbondante grasso addominale (n)	Poco grasso addominale (n)	Quadro congestizio emorragico (n)	Segni cutanei (n)	Segni cutanei da rete di pesca (n)	Segni cutanei, integrità pinne (n)	Fegato giallo (n)	Totale Alterazioni (n)	Tot esemplari (n)	Alterazioni (%)	Tipologia
Abramide						2			2	13	15,4	Pescato
Carassio				42					42	68	61,8	Pescato
Coregone	4		1						5	104	4,8	Pescato
Lucioperca		6					5		11	11	100,0	Allevato
Pesce gatto							2		2	4	50,0	Allevato
Pesce persico		2							2	150	1,3	Pescato
Tinca					1	1		1	3	7	42,9	Pescato
Trota fario							4		4	4	100	Allevato
Totale	4	8	1	42	1	3	11	1	71	361	19,7	

Tab. 15: Dettaglio delle alterazioni fisiopatologiche

Caso dei Carassi con quadri emorragici:

Il 62% dei carassi campionati (n=42 su 68) riportava un quadro congestizio-emorragico diffuso: evidenti erano le lesioni cutanee diffuse su tutto il corpo, incluse le pinne. All'ispezione degli organi contenuti nella cavità celomatica si confermava la presenza di un quadro congestizio-emorragico, con presenza di liquido rosato sieroso in cavità celomatica. Cinque carassi (7% dei carassi campionati) al momento del campionamento erano vivi (subvitali), anche se mantenuti ormai da almeno 24 ore fuori dall'acqua. Tutti gli esemplari vivi al momento del campionamento avevano un quadro congestizio-emorragico. Confrontando elementi di valutazione ispettiva per quanto concerne la consistenza delle carni si osservava che il 76% dei soggetti con quadro emorragico (n=32) aveva una consistenza di tipo elastico: questa tipologia di consistenza nel campione di carassi campionato era presente solamente nei quadri congestizio-emorragici. Il rigor mortis era presente unicamente in 8 soggetti (31% del totale dei soggetti) che non presentavano lesioni. Per quanto riguarda invece la consistenza soda a livello muscolare, all'ispezione appariva che 18 soggetti (69%) non avevano lesioni e solo 5 soggetti (12%) aveva questo tipo di consistenza in presenza del quadro emorragico.

Sono stati campionati per effettuare indagini microbiologiche 11 soggetti suddivisi in 3 conferimenti (4+4+3) nei mesi di novembre, dicembre, gennaio. I carassi provenivano dal Delta del Po (4 soggetti) e dal lago Trasimeno (7 soggetti). I risultati microbiologici hanno mostrato esiti negativi per tutti gli organi campionati fegato, rene anteriore, milza, cervello.

Dagli esami istopatologici sono emersi quadri congestizio-emorragici a carico della cute e degli altri organi campionati.

	Consistenza elastica	Consistenza soda	Rigor mortis	Vivo	TOT.
Assenza lesioni	0 (0%) (0%) (0%)	18 (69%) (78%) (26%)	8 (31%) (100%) (12%)	0 (0%) (0%) (0%)	26(38%)
Quadro congestizio emorragico	32 (76%) (100%) (47%)	5 (12%) (22%) (7%)	0 (0%) (0%) (0%)	5 (12%) (100%) (7%)	42(62%)
Totale	32(47%)	23(34%)	8(12%)	5(7%)	

Tab. 16: Carassi: tabella riassuntiva riscontri quadri emorragici ed elementi di valutazione della freschezza (*, □)



Fig. 37: Aspetto macroscopico congestizio-emorragico di due carassi



Fig. 38: Interno della cavità celomatica di un carassio, quadro emorragico

3.7 Tecnopatie (riscontri cutanei)

Durante il campionamento sono stati esaminati 18 pesci allevati delle seguenti specie: anguilla (n=5), lucioperca (n=5), trota fario (n=4), pesce gatto (n=4). Gli esemplari provenivano rispettivamente da Italia, Danimarca, Francia e Croazia. Le anguille come da tradizione erano commercializzate principalmente vive nel periodo invernale.

Undici esemplari dei diciotto visionati presentavano lesioni delle pinne, che in 2 casi erano progrediti fino alla completa scomparsa della pinna caudale (Lucioperca allevati in Danimarca), come visibile in Fig. 39. Erano apprezzabili anche deformazioni di lieve entità degli opercoli.



Fig. 39: Esempjari di lucioperca con lesioni alle pinne caudali



Fig. 40: Dettaglio delle lesioni alle pinne caudali in lucioperca

3.8 Neoplasie

Durante il periodo considerato non sono state individuate malattie neoplastiche rilevabili a livello macroscopico.

4 DISCUSSIONE

Riscontri di specie

La coerenza della denominazione di specie nelle indicazioni presenti in etichetta che è stata riscontrata nei sopralluoghi condotti durante questo studio in affiancamento al Veterinario Ufficiale della struttura del Mercato ittico di Milano ha dimostrato una conformità a livello legale. Nella letteratura sono riportati casi in cui questa non è confermabile, dal momento che in diversi casi non è del tutto conforme. A titolo di esempio, vengono riportate differenze nell'etichettatura errata tra i diversi punti vendita, come i ristoranti o i servizi di catering e i dettaglianti e supermercati, con tassi elevati di etichettatura errata nella ristorazione collettiva tedesca ed europea (Pardo, 2018, 2020; Kapell, 2016), anche in alcuni prodotti ittici importati da Paesi Terzi (Kusche, 2021). Nel riconoscimento di specie ittiche il medico veterinario nell'ambito del Controllo Ufficiale è chiamato alla verifica a campione della correttezza di quanto riportato al consumatore. Questa attività, che l'OSA deve assicurare, verrà verificata a campione durante i controlli ufficiali: il controllore ufficiale potrà avvalersi specialmente della valutazione della modalità di presentazione, nella quale si sono persi caratteri anatomici peculiari delle indagini molecolari (Armani, 2015; Zhang, 2022).

Stato di freschezza

Durante i campionamenti, la valutazione dello stato di freschezza è stata attuata tenendo in considerazione il fatto che al momento non sono disponibili, per la maggior parte delle specie dulciacquicole, schemi QIM, i quali rappresentano un sicuro riferimento; inoltre, anche il Reg. (CEE) 2406/96 fa riferimento unicamente ai

pesci di acqua salata. Lo studio effettuato prende come “base” lo schema Artioli-Ciani, poi modificato in quanto questo riferibile anch’esso al pesce di acqua salata. Sono stati considerati due elementi definiti “fondamentali”: Rigidità cadaverica e Odore.

È stata valutata la consistenza delle carni, che fornisce utili indicazioni in merito, insieme ad altri parametri specie-specifici. Il 47.7% dei campioni esaminati (n=444) presentava rigor mortis; il 47.1% (n=438) aveva una consistenza soda, mentre il 4% (n=37) aveva una consistenza elastica. Questo dimostra come il pesce di acqua dolce venduto a livello di mercato ittico all’ingrosso dimostri un buon grado di freschezza, il che era in linea con quanto atteso. Erano presenti, inoltre, un totale di 11 pesci vivi (5 carassi, 5 anguille, 1 carpa). Una componente importante per stabilire il valore di mercato del pesce è la sua freschezza, determinata principalmente dal periodo di tempo che intercorre dalla cattura sino alla vendita/somministrazione al consumatore. Accorciando il tempo che intercorre tra lo sbarco e la vendita finale, la freschezza può essere migliorata e quindi il valore di mercato può conseguentemente aumentare (Hakim, 2018). Lo stato di freschezza di pesci venduti all’ingrosso dovrebbe essere particolarmente curato perché si presuppone che durante la filiera di vendita, trasporto, trasformazione e somministrazione lo stesso debba permanere il maggior tempo possibile per incrementare la vita commerciale e quindi limitare eventuali sprechi. Questo rappresenta un aspetto con impatti diretti e indiretti sullo status sanitario/conservativo per la tutela del consumatore. L’incremento delle shelf life nei prodotti della pesca resta un obiettivo che impegna anche l’industria degli imballaggi innovativi (Qiu, 2022).

Per quanto concerne l’odore, non si sono presentati odori attribuibili a uno stato di “alterazione” come gli odori fecaloide o ammoniacale, importanti per definire il prodotto alterato. Gli odori riscontrati sono stati tipici per la specie considerata senza note anomale apprezzabili.

Provenienze

A seguito del campionamento effettuato nell'arco del triennio 2019-2022 presso il mercato ittico di Milano è stato possibile rappresentare quanto commercializzato presso l'impianto destinato alla distribuzione nel vasto bacino territoriale del Nord Italia e del vicino Canton Ticino.

Il campionamento dei 930 soggetti si è susseguito settimanalmente in base alle disponibilità di prodotto presenti e ha permesso di minimizzare diversi aspetti che influiscono su un regolare e costante arrivo dei prodotti ittici dulciacquicoli. Alcuni elementi potrebbero essere rappresentati dalle disponibilità stagionali (Pope, 1996) e da altri fattori (Schall, 2021) come il fermo pesca (Dey, 2021), le condizioni meteorologiche dei bacini idrici di pesca, l'andamento dei prezzi di mercato, le richieste dinamiche di natura prettamente commerciale.

Parassiti

Questo studio mostra, in riferimento ai soggetti dulciacquicoli e anadromi venduti nel triennio 2019-2022 presso il mercato ittico di Milano, la prevalenza della presenza di soggetti parassitati in maniera macroscopicamente visibile, quindi senza l'ausilio di mezzi di ingrandimento ottico, come da definizione contenuta nel Reg. (CE) 2074/2005. La prevalenza dei soggetti parassitati è pari a al 4,7 % su 930 pesci campionati appartenenti a 18 specie, che nel 93% dei casi provenivano da bacini idrici italiani distribuiti principalmente nel Nord e nel Centro Italia.

Questo fornisce un'indicazione che potrebbe essere valorizzata in termini di gestione del "rischio" parassitario nelle specie di acqua dolce e nelle specie anadrome.

Tra le diverse specie campionate e i ritrovamenti effettuati ci sono differenze relative alla distribuzione e all'intensità media delle infestazioni che verranno discusse di seguito.

L'Alosa fallax (Lacépède, 1803) è una specie ittica anadroma della famiglia Clupeidae; ha una vita marina pelagica e migra verso i livelli inferiori e medi dei corsi d'acqua per la deposizione delle uova; esistono comunque anche alcune

popolazioni di terraferma (Aprahamian, 2003). I tempi della migrazione riproduttiva degli adulti nelle acque dolci avviene in primavera. I pesci maturi si fermano durante il giorno lungo la riva del fiume, e la deposizione delle uova avviene di notte. Dopo la schiusa, il novellame migra verso i corsi d'acqua a valle e negli estuari durante l'estate e l'autunno ed entrano in mare all'inizio dell'inverno (Bao, 2015).

Si sa molto poco sulla presenza di parassiti nell'alosa e sul loro impatto sulla specie (Rokicki, 2009).

Stroe e collaboratori (2022) hanno riscontrato in Alosa (*Alosa immaculata*) sul fiume Danubio il parassita *Contracaecum aduncum* (Rudolphi, 1802) con una prevalenza del 39.13% in estate e del 46.67% in autunno: questa percentuale è quasi sovrapponibile al 49% riscontrato nel nostro studio. Nelle cheppie sono stati riscontrati nella penisola iberica *A. simplex* s.s. e *A. pegreffii* (Bao, 2015). Lo stesso autore conferma quanto riscontrato durante lo studio, ovvero che la maggior parte delle larve si trovavano specialmente nella cavità viscerale, localizzate all'estremità posteriore del sacco cieco terminale dello stomaco. Đikanović e collaboratori (2018) hanno esaminato anch'essi il tubo gastroenterico delle cheppie: le prevalenze sono diversificate a seconda del luogo di prelievo (delta del Danubio) e variano dal 18,6% (n=16) al 100% (n=16) tra gli endoparassiti, dei quali sono stati identificati i rappresentanti del Phylum *Contracaecum* sp. e *Anisakidae*.

Nello studio condotto da Rokicki, (2009) nelle cheppie è stata riscontrata la presenza di L3 di *Contracaecum osculatum*, dove si conferma la localizzazione celomatica sia nel fegato che nei ciechi pilorici. La prevalenza riscontrata per *C. osculatum* era del 39,0%. L'entità dell'infestazione aumentava con le dimensioni (età) confermando anche l'andamento riscontrato presso il Mercato Ittico di Milano (andamento correlato tra aumento di soggetti parassitati e peso). Questo potrebbe essere giustificato con il fatto che *C. osculatum* viene ingerito con i copepodi (primi ospiti intermedi) o con i pesci (secondi ospiti intermedi o paratenici) (Moravec, 1994), che rappresentano elementi di base della dieta dell'alosa. I giovani soggetti ingeriscono alimenti più piccoli, come i copepodi, mentre i pesci con età più avanzata integrano la loro dieta con altri zoo-plancton, insetti e piante; il novellame di alosa si nutre di avannotti di altri pesci come aringa, e ghiozzo, oltre che di crostacei). I soggetti

adulti, d'altra parte, si nutrono praticamente esclusivamente di pesci (Skóra, 2012), il che può indicare il ruolo che hanno gli altri pesci come ospiti paratenici nell'infestazione di *A. fallax*, e contemporaneamente nell'accumulo di parassiti. La peculiare localizzazione in cui si riscontrano i parassiti favorisce la “gestione” parassitaria in termini di prodotto della pesca.

Eustrongylides sono stati descritti per la prima volta da Jägerskiöld nel 1909, prelevati da uccelli acquatici dell'Africa orientale in sede di autopsia.

Il loro riscontro in Italia sta diventando sempre più frequente, infatti diverse sono le segnalazioni che si susseguono (Dezfuli, 2015; Branciarì, 2016; Menconi, 2020; Menconi, 2021; Guardone, 2021; Franceschini, 2022; Rusconi, 2022). La distribuzione di questi nematodi è cosmopolita. La loro continua diffusione potrebbe essere causata dagli uccelli ittiofagi che, essendo ospiti definitivi, hanno un ruolo cruciale nella loro diffusione specialmente durante le migrazioni stagionali: questo potrebbe spiegare l'insorgenza delle infestazioni da eustrongilidosi in aree/regioni in cui non era stata riscontrata. *E. ignotus* ed *E. tubifex* sono le principali specie parassitarie segnalate in Nord America, mentre per Europa, Asia, Africa e Medio Oriente la specie più diffusa è stata *E. excisus* (Honcharov, 2022), come confermato nel nostro studio.

Bacino geografico	Numero soggetti	Prevalenza (%)	Riferimenti Bibliografici
Lago di Garda	110	8,2	Corti
Lago di Garda	212	1,54	Menconi, 2021
Lago San Michele	30	10	Menconi, 2020
Lago di Annone	114	9,6	Rusconi, 2022
Lago Trasimeno	41021	67,99	Franceschini, 2022
Lago Trasimeno	1536	6,84	Branciarri, 2016.
Lago Trasimeno	510	6	Dezfuli, 2015
Lago Trasimeno	11	20	Corti
Slovacchia	-	9,3	Juhásová, 2019
Ucraina	155	85,1	Goncharov, 2018.
Ucraina	-	50	Matvienko, 2015
Bulgheria	180	13,9	Shukerova, 2010
Mar Caspio	36	33,3	Sattari, 2004

Tab. 17: Prevalenze di *Eustrongylides* riportate in studi condotti in area europea *P. fluvialitis*

Confrontando i dati presenti in letteratura mostrati in Tab. 17, riguardo alla prevalenza riscontrata sul lago di Garda per la specie pesce persico si nota come la prevalenza riportata da Menconi e collaboratori (2021) risulta essere considerevolmente più bassa (1,5%) rispetto all'8,2% di questo studio. Questo anche se si tiene in considerazione la prevalenza più alta riscontrata nel suo studio, ovvero 5,55% nella zona di Lazise (Lago di Garda sponda veronese) con 36 pesci esaminati.

Un'incidenza più alta è stata riscontrata nel persico trota (*Micropterus salmoides*) sullo stesso lago da Menconi (2021) dove viene riscontrata una prevalenza che sale fino al 60% di molto superiore a quanto riscontrato sul lago Trasimeno 1,89%

(Branciarri, 2016) e 0,20% nel 2020 (Franceschini, 2021) e del lago di San Michele 10% (Menconi, 2020).

La percentuale riscontrata sul lago di Garda nel nostro studio è in linea con quanto recentemente riscontrato nei laghi del nord Italia (Lago di Annone in Lombardia, Lago di San Michele in Piemonte), nel lago Trasimeno come riportato negli anni 2016 e 2015 da Branciarri e Dezfuli, e collaboratori. Il risultato è in linea, inoltre, con quanto riportato in Slovacchia e Bulgaria (Juhásová, 2019; Shukerova, 2010).

Per quanto riguarda il riscontro nei pesci persici effettuato sul lago Trasimeno fa riferimento a un solo arrivo del 2021.

Per quanto riguarda la localizzazione del parassita nella specie pesce persico, nello studio è stata riscontrata essere a livello di cavità celomatica e di muscolatura. Nel filetto è coinvolto il quadrante anteriore ventrale, in linea con quanto riportato in letteratura per la medesima specie (Franceschini, 2022, Menconi, 2020).

Per quanto riguarda il latterino, il parassita non è stato riscontrato nel Lago di Bolsena dove sono stati campionati 335 soggetti. Per quanto concerne il Lago Trasimeno, nel latterino è stata individuata una prevalenza del 2,5%. Per lo stesso lago nell'anno 2019 e 2020 sono state riportate prevalenze del 5,71% e del 21,05% da Franceschini e collaboratori (2022); nel lago di Massaciuccoli in Toscana Guardone e collaboratori (2021) hanno riscontrato nel latterino una prevalenza pari a 2,3% molto vicina a quella riscontrata nel presente studio.

Questo nematode può ben rappresentare l'esempio di parassita visibile, in quanto il suo colore e le sue dimensioni lo rendono facilmente individuabile a livello macroscopico e deve pertanto essere individuato e gestito come disposto dal Reg. (CE) 2074/2005 e dalla CSR/195 (Franceschini, 2022), per cui l'OSA deve dotarsi di un sistema di gestione del rischio parassitario (Reg. (CE) 178/2002, Reg. (CE) 852/2004, Reg. (CE) 853/2004). Non devono pervenire animali infestati che possano creare sensazioni di disgusto al consumatore, che la legge tutela sia con Regolamenti comunitari che nazionali (Legge 283 del 1962).

Il potenziale zoonotico di questo parassita è stato dimostrato, anche se non desta particolare preoccupazione in quanto in letteratura sono stati riportati pochi casi tra

cui 2 casi nel Sudan e 5 casi negli USA. I casi statunitensi riportano che solo un caso è stato attribuito al consumo di sushi preparato in casa, mentre gli altri quattro sono stati causati dal consumo di pesci vivi da parte di pescatori. (CDC, 1982; Eberhard, 1989; Wittner, 1989; Eberhard, 2014; Guerin, 1982; Williams, 2022). Tradizionalmente latterino e pesce persico vengono consumati cotti, ma nel caso in cui si dovessero consumare crudi il congelamento preventivo previsto dal Reg (CE) 853/2004 e dal “Decreto Balduzzi” per le preparazioni casalinghe deve essere applicato.

Il ritrovamento di *Triaenophorus nodulosus*, sia nei lucci che nei persici provenienti dai bacini idrici del Nord Europa (Lago Hjälmarén, FAO 27.IV - Oceano Atlantico - Mare del Nord) e dell'Italia (Laghi di Bolsena e Garda) dimostra la sua forte diffusione come riportato in letteratura (Valtonen, 1989; Buchmann, 1995; Scholz, 2021; Duan, 2021). Il ritrovamento di questo parassita nel lago di Bolsena, per quanto potuto valutare, risulta essere la prima segnalazione avvenuta per questo bacino idrico. Tale ritrovamento effettuato presso il mercato ittico, oltre al valore di natura sanitaria (“presenza di parassita visibile”), rappresenta un dato utile nell'approfondimento della conoscenza dell'ecologia lacustre del Lago di Bolsena.

Entrambe le specie *Triaenophorus nodulosus* e *Triaenophorus crassus* sono presenti in Italia (Scholz, 1992; Gustinelli, 2006).

In questo studio il peso dei pesci persici parassitati era significativamente inferiore rispetto al peso dei persici non parassitati con lunghezza simile: questo fatto avvalorava quanto già riscontrato da Vovk e collaboratori nel 2020, i quali hanno riscontrato una differenza significativa nei parametri morfo-biologici tra gli esemplari non infestati e quelli infestati da *T. nodulosus*, rilevando inoltre un ritardo significativo nella crescita, nella perdita di peso e nella fertilità degli esemplari infestati, che sembrerebbe non avere comunque influito sulla capacità riproduttiva dei pesci.

Secondo i dati riportati in letteratura, il rapporto degli enzimi digestivi cambia nel pesce persico infestato dai plerocercoidi *Triaenophorus*: la loro attività diminuisce, soprattutto negli enzimi che provvedono alle fasi iniziali dell'assimilazione dei

componenti proteici del cibo. (Florova et al., 2018). Sono riportati anche informazioni sull'impatto negativo dell'invasione di *T. nodulosus* sull'organismo e su alcuni parametri biochimici del fegato (Morley, 2017; Borvinskaya et al., 2019).

Hysterothylacium (cuori di pesce spada)

Per quanto riguarda i ritrovamenti nei cuori di pesci spada di provenienza atlantica esaminati, questa rappresenta la prima segnalazione di *H. incurvum* all'interno delle camere cardiache di *X. gladius*.

H. incurvum è un ritrovamento che può essere considerato tipico nei pesci spada pescati in Oceano Atlantico (Mattiucci, 2014).

In letteratura l'unico ritrovamento di larve all'interno delle camere cardiache di pesci di acqua dolce è stato quello di *Contracaecum* sp. (Dick, 1987), in cui non si era avuta risposta infiammatoria da parte di alcun ospite. Dai dati raccolti nel presente studio, nessuno dei campioni positivi ha mostrato una riduzione del peso corporeo, suggerendo un completo adattamento ospite-parassita. Secondo Kabata (1970) esiste la possibilità che lo stadio iniziale dei parassiti, nel presente studio le larve L3, durante il fisiologico movimento intra-vitam tra cavità celomatica e tessuto muscolare possano spostarsi nell'aorta ventrale, raggiungendo il bulbo arterioso e ventricolo del cuore provocando, in caso di infezione massiccia, l'occlusione dei vasi sanguigni.

Dai dati in nostro possesso, nessuno dei soggetti positivi presentava alterazioni macroscopicamente apprezzabili a livello di muscolo cardiaco. Sono in corso ulteriori approfondimenti per valutare eventuali alterazioni.

La localizzazione intracardiaca da un punto di vista ispettivo rappresenta un utile dato in quanto ci si trova di fronte a parassiti macroscopicamente visibili, ma che per "accessibilità" al consumatore lo rende a basso impatto, considerando che tradizionalmente la vendita di questo tipo di pesce avviene a fette e comunque eviscerato. Valutando l'impatto zoonosico del genere *Hysterothylacium*, questo non desta particolari preoccupazioni se non per eventuali reazioni allergiche (Gazzonis, 2017, Valero, 2003).

Caryophyllidea

I *Caryophyllidea* sono cestodi che infestano facilmente i ciprinidi in tutta Europa. Il loro ritrovamento è un riscontro relativamente frequente (Kuchta, 2020).

In Italia ci sono state alcune segnalazioni di nematodi di tipo *Caryophyllide*. Un esempio è quello del Lago di Massaciuccoli in Toscana (Macchioni, 2015) nel quale si è riscontrata la loro presenza nell'intestino dei diversi ciprinidi campionati con una prevalenza di 9,19%. Nel 2007 nel lago di Piediluco in Umbria sono stati riscontrate scardole infestate con una prevalenza di 26,8%.

Nel nostro studio è stato riscontrato un solo soggetto parassitato (con 15 nematodi) pescato nel lago Trasimeno. Questi parassiti sono cestodi non considerati zoonotici. La loro localizzazione intestinale, nonostante le sue dimensioni, lo rendono non così facilmente individuabile.

Alterazioni fisiopatologiche

Il ritrovamento di un'alta percentuale (62%) di carassi con emorragie cutanee in vendita presso il mercato ittico di Milano è stata riscontrata solo nella specie carassio e non negli altri ciprinidi campionati (carpa, tinca, scardola, abramide). Ha coinvolto entrambe le provenienze dulciacquicole italiane: lago Trasimeno e Delta del fiume Po.

Le indagini microbiologiche hanno messo in evidenza l'assenza di patologie di natura batterica, come quelle provocate da crescita batterica di *Aeromonas hydrophila* (Li, 2022) o *Aeromonas sobria* già segnalato in episodi di mortalità nel lago Trasimeno. Sia a livello macroscopico che istologico si è potuto apprezzare un classico quadro emorragico-congestizio. Interessante è il riscontro di pesci vivi anche dopo 24 ore dalla pesca (evidenza accaduta solo nel periodo invernale).

Come è noto, i membri del genere *Ciprinide*, e in particolare il carassio (*Carassius carassius*) e il pesce rosso (*Carassius auratus*), sono in grado di sopravvivere e di rimanere attivi per lunghi periodi in condizioni di ipossia, anche in completa mancanza di ossigeno (Bickler, 2007). Per questo motivo tali specie vengono

utilizzate come modelli sperimentali preziosi per studiare strategie fisiologiche che consentano agli animali di sopravvivere in condizioni di ossigeno ridotto (Filice, 2020).

In diverse specie di pesci, la resistenza all'ipossia/anossia prolungata è sostenuta da una conservata attività cardiaca e dal controllo autonomico dell'attività cardiovascolare (Imbrogno, 2019, Stecyk, 2004). Questo permette loro non solo di mobilitare verso tutti i tessuti il glucosio prelevato dalle scorte di glicogeno epatico, ma anche di trasportare il lattato al muscolo, dove viene convertito nel meno nocivo etanolo, che viene rapidamente eliminato attraverso l'epitelio branchiale (Gattuso, 2018; Nilsson, 2001). In questo contesto, in condizioni di ipossia acuta il pesce rosso migliora le proprie prestazioni cardiache (Imbrogno, 2014), il che rappresenta un meccanismo fisiologico di compensazione cruciale per sostenere la tolleranza all'ipossia (Gattuso, 2018).

Il fatto che tutti i soggetti venduti vivi fossero anche emorragici è un elemento che potrebbe aprire nuove considerazioni sull'eziologia di questi fenomeni.

Le osservazioni ispettive sulla consistenza delle carni e la presenza del quadro cutaneo “caratteristico” delineano il fatto che la consistenza della muscolatura dei soggetti emorragici è per la maggior parte elastica e poche volte soda, mai in rigor mortis. L'ipotesi che questo fenomeno riscontrato possa derivare da pesca illegale attraverso l'utilizzo di "stimoli elettrici" potrebbe essere esclusa per la peculiarità delle lesioni che sono causate da questo tipo di pesca (Mazzariol, 2021).

La genesi fisiopatologica dei reperti appare pure confermata dai mancati isolamenti batteriologici pluritissutali. Pur considerando, infatti, che le metodologie di screening utilizzate potrebbero non aver consentito l'evidenziazione di basse cariche di alcune specie di enterobatteri (noti responsabili di setticemie in pesci fortemente stressati o agonici), se ne può escludere la responsabilità per la totale mancanza di reattività flogistica tissutale, già riferita.

Detti riscontri al momento sono parziali e non permettono di esprimersi sulla spinosa questione del potenziale “maltrattamento” animale che, ricordiamo, anche nel caso del pesce potrebbe prevedere la denuncia in base all'art. 627 del C.P. che punisce

“chi detiene animali in condizioni incompatibili con la loro natura e produttive di gravi sofferenze”; il tutto considerando inoltre anche l’aspetto per cui ci si trova di fronte alla commercializzazione di alimenti vivi.

In ogni caso, storicamente nella Comunità Europea sia il trasporto che la detenzione di pesci da vendersi vivi ha sempre richiesto le condizioni più idonee alla loro sopravvivenza. Ciò ancor più oggi dal momento che sia i pesci che i crostacei sono stati riconosciuti esseri senzienti.

Tecnopatie

Presso il mercato ittico di Milano vengono vendute quantità variabili di prodotti d’acqua dolce allevati, che variano molto in riferimento alla stagione ed al consumo tradizionale (ad esempio l’anguilla viene consumata prevalentemente nel periodo natalizio). Il riscontro di una buona percentuale di danneggiamento delle pinne viene generalmente considerato un indicatore di benessere dei pesci (Procarione, 1999; North, 2006, Klíma, 2013): questa può essere a tutti gli effetti classificata come una “tecnopatia” (Stejskal, 2020). Le pinne rosee possono fungere da sito di infezione microbica (Schneider, 1980, Iseni, 2022) e possono portare alla perdita parziale delle pinne (Kindschi, 1991), come peraltro riscontrato durante il nostro studio. Le pinne danneggiate possono direttamente interferire con le attività di nuoto; l’erosione o l’assenza di pinne possono portare inoltre ad una riduzione significativa del valore economico di pesci e influire sull’accettazione da parte dei consumatori del prodotto in vendita (Stejskal, 2020).

Alcuni esemplari di lucioperca e di trote fario allevati mostravano segni tipici dell'allevamento a carico delle pinne.

Anche per quanto riguarda l’acquacoltura d’acqua dolce, la produzione è incrementata passando dal 55.6% al 61.2% tra il 1995 e il 2019 (Gyalog, 2022).

Neoplasie

Per quanto riguarda le neoplasie, nei pesci ne esiste un'innumerabile varietà; possono insorgere essenzialmente da tutti i tipi cellulari. La frequenza delle neoplasie nei pesci non è trascurabile, anche se la loro eziologia è multifattoriale e la loro insorgenza è difficilmente prevedibile; nel solo periodo 2010 – 2020 sono state descritte in letteratura 90 neoplasie relative a 56 specie di teleostei (Romano, 2020)

Durante i sopralluoghi effettuati presso il mercato ittico di Milano nel periodo precedente il triennio del dottorato è stata riscontrata la presenza di due neoplasie accertate (Iaria, 2019): nello specifico esse coinvolgevano in entrambi i casi delle specie dulciacquicole. E' stato riscontrato uno schwannoma in un carassio nel lago Trasimeno che rappresentava una prima segnalazione e un papilloma localizzato sulla pinna caudale di un abramide pescato nel Delta del Po. Durante lo studio entrambe le specie e le provenienze sono state oggetto di campionamento; non erano stati riscontrati ulteriori rilievi neoplastici macroscopici.

5 CONCLUSIONI

I risultati di questa indagine inducono a ritenere che un esame approfondito (autoptico), rafforzato eventualmente da ricorsi analitici semplici, condotto a campione, possa essere ripagante ai fini della maggior tutela della salute pubblica, di quella ambientale e degli stessi organismi acquatici, in piena ottica One Health.

Da quanto emerso a fronte di questo studio è stato possibile mettere in evidenza molti elementi, fra i quali ad esempio: la prevalenza dei parassiti "visibili" (come indicato nel Reg. (CE) 2074/2005) nei pesci d'acqua dolce e anadromi presenti sul mercato ittico di Milano nel periodo considerato; il riscontro di *Triaenophorus nodulosus*, cestode che non ci risulta ancora segnalato nel bacino idrico del lago di Bolsena nel luccio (*Esox lucius*); la localizzazione intracardiaca del parassita *Hysterothylacium incurvum* nel pesce spada (*Xiphias gladius*) pescato Atlantico Nord-Orientale – acque portoghesi (FAO 27.IXa), non ancora descritto con questa particolare localizzazione. Tutto ciò che è stato riscontrato ha fornito validi elementi per potere considerare “strategico” il ruolo epidemiologico dei mercati ittici.

Appare chiaro che il controllo e gli adempimenti dell’OSA che appone il proprio marchio di identificazione sui prodotti sarebbe così inserito in un più coordinato sistema di controlli e che il rapporto costo-beneficio potrebbe andare a vantaggio per gli stessi OSA che avrebbero la possibilità di guadagnare in qualità, lungo tutti gli anelli della filiera ittica.

Come già accennato potrebbe crearsi quel feedback tra OSA della produzione primaria e Controllo Ufficiale già previsto e pianificato per il comparto carni. Al riguardo, va comunque ricordato che nel Reg. (CE) 852/2004 è sancito che anche nella produzione primaria del settore pesca e acquacoltura è obbligatorio annotare sull’apposito registro le “segnalazioni pertinenti” (Allegato I, Parte A, punto 8). A ciò non è però seguita una vera chiarificazione come nella filiera delle carni, per la quale con il Reg. (CE) 2074/2005 prima e con il Reg. (UE) 2019/627 poi, sono state specificate le informazioni che il Veterinario pubblico del macello deve inviare all’OSA della produzione primaria in merito ad esempio allo stato di pulizia degli animali, al loro stato di benessere ed ai sequestri parziali o totali effettuati.

Il Controllo Ufficiale Veterinario potrebbe strutturarsi anche nella filiera ittica per partecipare attivamente, attraverso un approccio One Health, oltre che nella predisposizione di piani di monitoraggio e controllo dei prodotti della pesca, anche nell'esecuzione di esami approfonditi (autoptici) effettuati da Medici Veterinari Ufficiali specialisti in punti definibili "strategici" come potrebbero essere i mercati ittici.

Nel nostro approccio, oltre ad una mera valorizzazione dell'ispezione al mercato ittico che diventerebbe vero osservatorio epidemiologico, si pensi alle più numerose segnalazioni di malattie parassitarie, batteriche e virali potenzialmente zoonosiche o pericolose per la diffusione in ambito ittico; o, ancora, le evidenze di fatti degenerativi ed altri possibili marker di polluzioni tossiche ambientali, ai quadri fisiopatologici da stress ed altro ancora.

Preme sottolineare come in quest'ottica tali riscontri, se registrati dall'OSA, possono diventare non solo facilmente consultabili e studiabili ma pure rappresentare un criterio di monitoraggio importante delle "materie prime" da parte degli OSA della produzione post-primaria.

6 BIBLIOGRAFIA

- Aibinu, Ibukun E.; Smooker, Peter M.; Lopata, Andreas L. Anisakis Nematodes In Fish And Shellfish-From Infection To Allergies. International Journal For Parasitology: Parasites And Wildlife, 2019, 9: 384-393.
- Algabbani, Q., Thagfan, F., Al-Quraishy, S., Banaeem, M., Alsaleh, T., Alotaibi, M., & Abdel-Gaber, R.. Morphological and molecular characterizations for the developmental stages of *Hysterothylacium* species infecting *Argyrops spinifer*. Journal of King Saud University-Science, 2021, 33.7: 101590.
- Al Quraishy, Saleh; Abdel-Gaber, Rewaida; Dkhil, Mohamed Abdel Monem. First record of *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Anisakidae) infecting the Red spot emperor *Lethrinus lentjan* in the Red Sea. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 2019, 28: 625-631.
- Anderson, Roy C. Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission. Cabi, 2000.
- Antonelli, P., Salerno, B., Bordin, P., Peruzzo, A., Orsini, M., Arcangeli, G.,... & Losasso, C.. Tetrodotoxin in live bivalve mollusks from Europe: Is it to be considered an emerging concern for food safety?. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2022, 21.1: 719-737.
- Aprahamian, C. D.; Baglinière, J. L. *Alosa Alosa* and *Alosa Fallax* Spp: Literature Review and Bibliography, R & D Technical Report W1-014/TR. Bristol: Environment Agency, 2003.
- Armani, A., Guardone, L., La Castellana, R., Gianfaldoni, D., Guidi, A., & Castigliero, L. DNA barcoding reveals commercial and health issues in ethnic seafood sold on the Italian market. Food Control, 2015, 55: 206-214.

- Austin, Brian; Austin, Dawn A.; Munn, C. B. Bacterial fish pathogens: disease of farmed and wild fish. Chichester: Springer, 2007.
- Austin, Brian; Newaj-Fyzul, Aweeda (ed.). Diagnosis and control of diseases of fish and shellfish. John Wiley & Sons, 2017.
- Bao, M., Pierce, G. J., Strachan, N. J., Pascual, S., González-Muñoz, M., & Levsen, A. Human health, legislative and socioeconomic issues caused by the fish-borne zoonotic parasite *Anisakis*: Challenges in risk assessment. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, 86: 298-310.
- Bao, M., Cipriani, P., Giuliatti, L., Drivenes, N., & Levsen, A. Quality issues related to the presence of the fish parasitic nematode *Hysterothylacium aduncum* in export shipments of fresh Northeast Arctic cod (*Gadus morhua*). *Food Control*, 2021, 121: 107724.
- Bao, M., Roura, A., Mota, M., Nachón, D. J., Antunes, C., Cobo, F., ... & Pascual, S. Macroparasites of allis shad (*Alosa alosa*) and twaite shad (*Alosa fallax*) of the Western Iberian Peninsula Rivers: ecological, phylogenetic and zoonotic insights. *Parasitology Research*, 2015, 114.10: 3721-3739.
- Barčák, D., Madžunkov, M., Uhrovič, D., Miko, M., Brázová, T., & Oros, M.. *Khawia japonensis* (Cestoda), the Asian parasite of common carp, continues to spread in Central European countries: distribution, infection indices and histopathology. *BioInvasions Record*, 2021, 10.4.
- Barros, L. A., Mateus, L. A. F., Braum, D. T., & Bonaldo, J. Ecological aspects of endoparasites in red piranha (*Pygocentrus nattereri* Kner, 1860) from Cuiabá river, Mato Grosso, Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 2010, 62.1: 228-231.

- Bartlett, C. M. Morphogenesis of *Contraecaecum rudolphii* (Nematoda: Ascaridoidea), a parasite of fish-eating birds, in its copepod precursor and fish intermediate hosts. *Parasite*, 1996, 3.4: 367-376.
- Berland, Bjørn. Musings on nematode parasites. 2006.
- Berland, Bjørn. Nematodes from some Norwegian marine fishes. *Sarsia*, 1961, 2.1: 1-50
- Bernardo, Y. A., Rosario, D. K., Delgado, I. F., & Conte-Junior, C. A. Fish Quality Index Method: Principles, weaknesses, validation, and alternatives—A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2020, 19.5: 2657-2676.
- Bickler, Philip E.; Buck, Leslie T. Hypoxia tolerance in reptiles, amphibians, and fishes: life with variable oxygen availability. *Annual review of physiology*, 2007, 69.1: 145-170.
- Bogdanović, T., Šimat, V., Frka-Roić, A., & Marković, K. Development and application of quality index method scheme in a shelf-life study of wild and fish farm affected bogue (*Boops boops*, L.). *Journal of food science*, 2012, 77.2: S99-S106.
- Borvinskaya, E. V., Sukhovskaya, I. V., Smirnov, L. P., Kochneva, A. A., Parshukov, A. N., Krupnova, M. Y., ... & Churova, M. V. The effect of *Triaenophorus nodulosus* (Cestoda: Bothriocephalidea) infection on some biochemical parameters of the liver of *Perca fluviatilis*. *Journal of Parasitic Diseases*, 2019, 43.4: 566-574.
- Boyd, Claude E.; Mcnevin, Aaron A.; Davis, Robert P. The contribution of fisheries and aquaculture to the global protein supply. *Food Security*, 2022, 1-23.

- Brabec J., Kuchta R., Scholz T. 2006: Paraphyly of the Pseudophyllidea (Platyhelminthes: Cestoda):circumscription of monophyletic clades based on phylogenetic analysis of ribosomal RNA. *Int. J. Parasitol.* 36: 1535–1541.
- Branciarri, R., Ranucci, D., Miraglia, D., Valiani, A., Veronesi, F., Urbani, E., ... & Franceschini, R. Occurrence of parasites of the genus *Eustrongylides* spp.(Nematoda: Dioctophymatidae) in fish caught in Trasimeno lake, Italy. *Italian Journal of Food Safety*, 2016, 5.4.
- Bray R.A., Jones A., Andersen K.I. 1994: Order Pseudophyllidea Carus, 1863. In: L.F Khalil, A. Jones and R.A. Bray (Eds.), *Keys to the Cestode Parasites of Vertebrates*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 205–247.
- Brinker, A.; Hamers, R. Evidence for negative impact of plerocercoid infection of *Triaenophorus nodulosus* on *Perca fluviatilis* L. stock in Upper Lake Constance, a water body undergoing rapid reoligotrophication. *Journal of Fish Biology*, 2007, 71.1: 129-147.
- Bucci, C., Gallotta, S., Morra, I., Fortunato, A., Ciacci, C., & Iovino, P. Anisakis, just think about it in an emergency!. *International Journal of Infectious Diseases*, 2013, 17.11: e1071-e1072.
- Buchmann, K.; Uldal, A.; Lyholt, H. C. Parasite infections in Danish trout farms. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 1995, 36.3: 283-298.
- Bruce, Niel L.; Cannon, Lester Rg. *Hysterothylacium*, *Iheringascaris* and *Maricostula* new genus, nematodes (Ascaridoidea) from Australian pelagic marine fishes. *Journal of Natural History*, 1989, 23.6: 1397-1441.

- Cai, L., Ao, Z., Tang, T., Tong, F., Wei, Z., Yang, F., ... & Mai, K. Characterization of difference in muscle volatile compounds between triploid and diploid crucian carp. *Aquaculture Reports*, 2021, 20: 100641.
- Canizales-Rodríguez, D. F., Ocaño-Higuera, V. M., Marquez-Rios, E., Graciano-Verdugo, A. Z., Cárdenas-López, J. L., Yepiz-Gómez, M. S., & Castillo-Yáñez, F. J. Biochemical, physical, chemical, and microbiological assessment of blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) stored in ice. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 2015, 24.3: 259-269.
- Cavallero, S., Lombardo, F., Salvemini, M., Pizzarelli, A., Cantacessi, C., & D'amelio, S. (2020). Comparative Transcriptomics Reveals Clues for Differences in Pathogenicity between *Hysterothylacium aduncum*, *Anisakis simplex sensu stricto* and *Anisakis pegreffii*. *Genes*, 2020, 11.3: 321.
- Centers For Disease Control (CDC, et al. Intestinal perforation caused by larval Eustrongylides-Maryland. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, 1982, 31.28: 383-389.
- Cheng, J. H., Sun, D. W., Pu, H., & Zhu, Z. Development of hyperspectral imaging coupled with chemometric analysis to monitor K value for evaluation of chemical spoilage in fish fillets. *Food Chemistry*, 2015, 185: 245-253.
- Cheng, J. H., Sun, D. W., Zeng, X. A., & Liu, D. Recent advances in methods and techniques for freshness quality determination and evaluation of fish and fish fillets: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 2015, 55.7: 1012-1225.
- Chervi Roda Triaenophorus, Kuperman BI Lentochnye. parazity ryb (eksperimental'naya siste-matika, ekologiya)[Tapeworms of the Genus

- Triaenophorus, Parasites of Fish (Experimental Systematics, Ecology)]. 1973.
- D'amico, P., Malandra, R., Costanzo, F., Castiglione, L., Guidi, A., Gianfaldoni, D., & Armani, A. Evolution of the Anisakis risk management in the European and Italian context. *Food Research International*, 2014, 64: 348-362.
 - Davidovich, N., Tedesco, P., Caffara, M., Yasur-Landau, D., Gustinelli, A., Drabkin, V., ... & Fioravanti, M. L. Morphological description and molecular characterization of *Contracaecum* larvae (Nematoda: Anisakidae) parasitizing market-size hybrid tilapia (*Oreochromis aureus* x *Oreochromis niloticus*) and red drum (*Sciaenops ocellatus*) farmed in Israel. *Food and Waterborne Parasitology*, 2022, 26: e00147.
 - De Witte, B., Coleman, B., Bekaert, K., Boitsov, S., Botelho, M. J., Castro-Jiménez, J., ... & Turner, A. D. Threshold values on environmental chemical contaminants in seafood in the European Economic Area. *Food Control*, 2022, 108978.
 - Dey, C. J., Rego, A. I., Bradford, M. J., Clarke, K. D., Mckercher, K., Mochnacz, N. J., ... & Koops, M. A. Research priorities for the management of freshwater fish habitat in Canada. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2021, 78.11: 1744-1754.
 - Dezfuli, B. S., Manera, M., Lorenzoni, M., Pironi, F., Shinn, A. P., & Giari, L. Histopathology and the inflammatory response of European perch, *Perca fluviatilis* muscle infected with *Eustrongylides* sp. (Nematoda). *Parasites & Vectors*, 2015, 8.1: 1-9.
 - Dezfuli, B. S., Giari, L., Lorenzoni, M., Manera, M., & Noga, E. J. Perch liver reaction to *Triaenophorus nodulosus* plerocercoids with an emphasis on

piscidins 3, 4 and proliferative cell nuclear antigen (PCNA) expression. *Veterinary Parasitology*, 2014, 200.1-2: 104-110.

- Dick, Terry A. The atrium of the fish heart as a site for *Contracaecum* spp. larvae. *Journal of Wildlife Diseases*, 1987, 23.2: 328-330.
- Đikanović, Vesna; Tošić, Katarina; Lenhardt, Mirjana. A review of the Diet and intestinal parasites of Pontic shad (*Alosa immaculata* Bennett, 1835) in the Danube River. In: *Proceedings of 3rd International Congress on Applied Ichthyology & Aquatic Environment*; 2018 November 8-11, Volos, Greece. Nea Ionia Magnesia: University of Thessaly-School of Agricultural Sciences, Department of Ichthyology and Aquatic Environment, 2018. p. 223-226.
- Duan, Y., Von Gersdorff Jørgensen, L., Kania, P. W., Karami, A. M., Al-Jubury, A., & Buchmann, K. Eye fluke effects on Danish freshwater fish: Field and experimental investigations. *Journal of Fish Diseases*, 2021, 44.11: 1785-1798.
- Eberhard, M. L., Hurwitz, H., Sun, A. M., & Coletta, D. Intestinal perforation caused by larval *Eustrongylides* (Nematoda: Dioctophymatoidea) in New Jersey. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 1989, 40.6: 648-650.
- Eberhard, Mark L.; Ruiz-Tiben, Ernesto. Case report: Cutaneous emergence of *Eustrongylides* in two persons from South Sudan. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2014, 90.2: 315.
- Eiras, J. C., Pavanelli, G. C., Takemoto, R. M., & Nawa, Y. An overview of fish-borne nematodiasis among returned travelers for recent 25 years—unexpected diseases sometimes far away from the origin. *The Korean journal of parasitology*, 2018, 56.3: 215.

- Filice, M., Mazza, R., Leo, S., Gattuso, A., Cerra, M. C., & Imbrogno, S. The hypoxia tolerance of the goldfish (*Carassius auratus*) heart: The NOS/NO system and beyond. *Antioxidants*, 2020, 9.6: 555.
- Florova , T.F., Parshukov, A.N. & Izvekova, G.I. Activity of Digestive Enzymes in Perch Infected with *Triaenophorus nodulosus* (Pallas) Plerocercoids. *Inland Water Biol* 11, 501–506 (2018).
- Fogarty, C., Whyte, P., Brunton, N., Lyng, J., Smyth, C., Fagan, J., & Bolton, D. Spoilage indicator bacteria in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) stored on ice for 10 days. *Food Microbiology*, 2019, 77: 38-42.
- Franceschini, R., Guardone, L., Armani, A., Ranucci, D., Roila, R., Valiani, A., ... & Branciarri, R. Five-years management of an emerging parasite risk (*Eustrongylides* sp., Nematoda) in a fishery supply chain located on Trasimeno Lake (Italy). *Food Control*, 2022, 136: 108858.
- Freitas, Jorge; Vaz-Pires, Paulo; Câmara, José S. Quality Index Method for fish quality control: Understanding the applications, the appointed limits and the upcoming trends. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 111: 333-345.
- Galimberti, Cristina, Corti, I., Cressoni, M., Moretti, V. M., Menotta, S., Galli, U., & Cambiaghi, D. Evaluation of mercury, cadmium and lead levels in fish and fishery products imported by air in North Italy from extra-European Union Countries. *Food Control*, 2016, 60: 329-337.
- Gattuso, A., Garofalo, F., Cerra, M. C., & Imbrogno, S. Hypoxia tolerance in teleosts: implications of cardiac nitrosative signals. *Frontiers in Physiology*, 2018, 9: 366.

- Gazzonis, A. L., Cavallero, S., Zanzani, S. A., Olivieri, E., Malandra, R., Ranghieri, V., ... & Manfredi, M. T. Anisakis sp. and Hysterothylacium sp. larvae in anchovies (*Engraulis encrasicolus*) and chub mackerel (*Scomber colias*) in the Mediterranean Sea: molecular identification and risk factors. *Food Control*, 2017, 80: 3
- Gebauer, T., Gebauer, R., Palińska-Żarska, K., Císař, P., Movchan, O., Tomášek, O., ... & Stejskal, V. Assessment of behavioural and physiological traits as indicators of suitability for European perch aquaculture. *Aquaculture*, 2021, 544: 737048.
- Giarratana, F., Panebianco, F., Nalbhone, L., Ziino, G., Valenti, D., & Giuffrida, A. Development of a predictive model for the shelf-life of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*). *Italian Journal of Food Safety*, 2022, 11.1.
- Giosuè, A., Calabrese, I., Lupoli, R., Riccardi, G., Vaccaro, O., & Vitale, M. Relations between the consumption of fatty or lean fish and risk of cardiovascular disease and all-cause mortality: a systematic review and meta-analysis. *Advances in Nutrition*, 2022.
- Giovinazzo, Giancarlo. Parasites of rudd (*Scardinius erythrophthalmus* L.) from Piediluco Lake (Umbria region, Italy). *Ittiopatologia*, 2007, 4:261-269
- Giuffrida, A., Ziino, G., Valenti, D., Donato, G., & Panebianco, A. Application of an interspecific competition model to predict the growth of *Aeromonas hydrophila* on fish surfaces during the refrigerated storage. arXiv preprint arXiv:0811.2662, 2008.
- Giuffrida, A., Giarratana, F., Valenti, D., Muscolino, D., Parisi, R., Parco, A., ... & Panebianco, A. A new approach to predict the fish fillet shelf-life in presence of natural preservative agents. *Italian Journal of Food Safety*, 2017, 6.2.

- Goncharov, S. L., Soroka, N. M., Pashkevich, I. Y., Dubovyi, A. I., & Bondar, A. Infection of predatory fish with larvae of *Eustrongylides excisus* (Nematoda, Dioctophymatidae) in the Delta of the Dnipro River and the Dnipro-Buh Estuary in Southern Ukraine. *Vestnik Zoologii*, 2018, 52, 137:144.

- Gram, Lone; Dalgaard, Paw. Fish spoilage bacteria—problems and solutions. *Current opinion in biotechnology*, 2002, 13.3: 262-266.

- Gram, Lone; Huss, Hans Henrik. Microbiological spoilage of fish and fish products. *International journal of food microbiology*, 1996, 33.1: 121-137.

- Grimm, Casey C.; Lloyd, Steven W.; Zimba, Paul V. Instrumental versus sensory detection of off-flavors in farm-raised channel catfish. *Aquaculture*, 2004, 236.1-4: 309-319.

- Guagliardo, Silvia; Viozzi, Gustavo; Brugni, Norma. Pathology associated with larval eustrongylides sp.(nematoda: Dioctophymatoidea) infection in *Galaxias maculatus* (actinopterygii: Galaxiidae) from Patagonia, Argentina. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 2019, 10: 113-116.

- Guardone, L., Ricci, E., Susini, F., Polsinelli, E., Guglielmone, G., & Armani, A. First detection of *Eustrongylides excisus* (Nematoda: Dioctophymatidae) in big-scale sand smelt (*Atherina boyeri*) from the lake Massaciuccoli (Northwest Tuscany, Italy): implications for public health and seafood quality. *Food Control*, 2021, 120: 107517.

- Guerin, P. F., Marapudi, S., Mcgrail, L., Moravec, C. L., Schiller, E., & Hopf, E. W. Epidemiologic notes and reports intestinal perforation caused by larval *Eustrongylides* Maryland. *MMWR*, 1982, 31.28: 383-389.

- Gustinelli, A., Gründ, H., Pircher, A., Stifter, E., & Fioravanti, M. L. Plerocercosi da *Triaenophorus crassus* (Cestoda, Pseudophyllidea) in Italia. *Ittiopatologia*, 2006, 3: 143-154.
- Gustinelli, Andrea. Elminti di interesse zoonosico in specie ittiche dulciacquicole nazionali. 2008.
- Guillermin-Regost, C., Haugen, T., Nortvedt, R., Carlehög, M., Lunestad, B. T., Kiessling, A., & Rørár, A. M. B. Quality characterization of farmed Atlantic halibut during ice storage. *Journal of Food Science*, 2006, 71.2: S83-S90.
- Gyalog, Gergő; Cubillos Tovar, Julieth Paola; Békefi, Emese. Freshwater Aquaculture Development in EU and Latin-America: Insight on Production Trends and Resource Endowments. *Sustainability*, 2022, 14.11: 6443.
- Hakim, G., Junianto, J., Liviawaty, E., & Hasan, Z. Study of Freshness of Mackerel (*Rastrelliger kanagurta* (Cuvier, 1816)) at Rancaekek Market, Resik Market, and Tanjungsari Market. *World Scientific News*, 2018, 114: 1-14.
- Haukisalme, Voitto. Checklist of tapeworms (Platyhelminthes, Cestoda) of vertebrates in Finland. *ZooKeys*, 2015, 533: 1.
- Hoffmann, R. W., Meder, J., Klein, M., Osterkornj, K., & Negele, R. D. Studies on lesions caused by plerocercoids of *Triaenophorus nodulosmin* some fish of an alpine lake, the Königssee. *Journal of Fish Biology*, 1986, 28.6: 701-712.
- Hoffman G.L. 1999: Parasites of North American Freshwater Fishes. Second Edition. Comstock Publishing Associates, Cornell University Press, Ithaca & London, 539 pp.

- Honcharov, S. L., Soroka, N. M., Halat, M. V., Dubovyi, A. I., Zhurenko, V. V., & Halushko, I. A. Distribution of the nematodes of the genus *Eustrongylides* (Nematoda, Dioctophymatidae) in the world. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 2022, 13.1: 73-79.
- Howgate, P. Tainting of farmed fish by geosmin and 2-methyl-iso-borneol: a review of sensory aspects and of uptake/depuration. *Aquaculture*, 2004, 234.1-4: 155-181.
- Hyldig, Grethe; Green-Petersen, Ditte Mb. Quality Index Method—an objective tool for determination of sensory quality. *Journal of aquatic food product technology*, 2005, 13.4: 71-80.
- Iaria, C., Ieni, A., Corti, I., Puleio, R., Brachelente, C., Mazzullo, G., & Lanteri, G. Immunohistochemical study of four fish tumors. *Journal of aquatic animal health*, 2019, 31.1: 97-106.
- Ibraheem, Mohammed; Mackiewicz, John. Scolex development, morphology and mode of attachment of *Wenyonia virilis* Woodland, 1923 (Cestoidea, Caryophyllidea). *Acta Parasitologica*, 2006, 51.1: 51-58.
- Imbrogno, S., Capria, C., Tota, B., & Jensen, F. B. Nitric oxide improves the hemodynamic performance of the hypoxic goldfish (*Carassius auratus*) heart. *Nitric Oxide*, 2014, 42: 24-31.
- Iseni, Gazmend; Berisha, Bute; Iseni, BesA. Analysis Of Scale Of Fin Damage (Erosion) In Farmed Rainbow Trout In The Republic Of Kosova. *Anglisticum. Journal of the Association-Institute for English Language and American Studies*, 2022, 11.5: 34-45.

- Ivanovic, J., Baltic, M. Z., Boskovic, M., Kilibarda, N., Dokmanovic, M., Markovic, R., ... & Baltic, B. Anisakis infection and allergy in humans. *Procedia Food Science*, 2015, 5: 101-104.
- Izvekova, G. I.; Solovyev, M. M. Activity of digestive hydrolases in fish infected with cestodes. *Biology Bulletin Reviews*, 2013, 3.2: 167-175.
- Izvekova, G. I.; Tyutin, A. V. Activity of digestive enzymes and distribution of the trematode *Bunodera luciopercae* (Müller) in the intestine of juvenile perch infected with plerocercoids of *Triaenophorus nodulosus* (Pallas). *Inland water biology*, 2014, 7.2: 167-171.
- Juhásová, L., Radačovská, A., Bazsalovicsová, E., Miklisová, D., Bindzárová-Gereľová, M., & Králová-Hromadová, I. A study of the endohelminths of the European perch *Perca fluviatilis* L. from the central region of the Danube river basin in Slovakia. *ZooKeys*, 2019, 899: 47.
- Kabata, Z.; Sniezko, S. F.; Axelrod, H. L. Diseases of fishes. Book, 1970, 1: 1-171.
- Kappel, Kristina; Schröder, Ute. Substitution of high-priced fish with low-priced species: adulteration of common sole in German restaurants. *Food control*, 2016, 59: 478-486.
- Karl, Horst; Levsen, Arne. Occurrence and distribution of anisakid nematodes in grey gurnard (*Eutrigla gurnardus* L.) from the North Sea. *Food Control*, 2011, 22.10: 1634-1638.
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., ... & Drummond, A. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 2012, 28.12: 1647-1649.

- Khodanazary, Ainaz. Freshness assessment of shrimp *Metapenaeus affinis* by quality index method and estimation of its shelf life. *International Journal of Food Properties*, 2019, 22.1: 309-319.
- Kimura, Motoo. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of molecular evolution*, 1980, 16.2: 111-120.
- Kindschi, G. A.; Shaw, H. T.; Bruhn, D. S. Effects of baffles and isolation on dorsal fin erosion in steelhead trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 1991, 22.3: 343-350.
- Kirsch, Thomas Ralph. Study of prevalence of *khawia sinensis* and *bothriocephalus acheilognathi* and antihelminthic treatment of carp. 2020. PhD Thesis. Lietuvos sveikatos mokslų universitetas.
- Klíma, Ondřej. Fin condition of fish kept in aquacultural systems. *Acta Univ Agric Silvic Mendelianae Brun*, 2013, 61.6: 1907-1916.
- Klimpel, Sven; Rückert, Sonja. Life cycle strategy of *Hysterothylacium aduncum* to become the most abundant anisakid fish nematode in the North Sea. *Parasitology Research*, 2005, 97.2: 141-149.
- Kuchta R., Vlčková R., Poddubnaya L.G., Gustinelli A., Dzika E., Scholz T. (2007). Invalidity of three Palaearctic species of *Triaenophorus* tapeworms (Cestoda: Pseudophyllidea): evidence from morphometric analysis of scolex hooks. *Folia Parasitologica*, 54 (1): 34-42.
- Kuchta, Roman, Et Al Kuchta, R., Řehulková, E., Francová, K., Scholz, T., Morand, S., & Šimková, A. Diversity of monogeneans and tapeworms in

cypriniform fishes across two continents. *International journal for parasitology*, 2020, 50.10-11: 771-786.

- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. Mega X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular biology and evolution*, 2018, 35.6: 1547.
- Kuperman B.I. 1973: Tapeworms of the Genus *Triaenophorus*, Parasites of Fish. *Experimental Systematics, Ecology*. Nauka, Leningrad, 208 pp.
- Lahnsteiner, Franz; Kletzl, Manfred; Weismann, Thomas. The risk of parasite transfer to juvenile fishes by live copepod food with the example *Triaenophorus crassus* and *Triaenophorus nodulosus*. *Aquaculture*, 2009, 295.1-2: 120-125.
- Lanzarin, M., Ritter, D. O., Novaes, S. F., Monteiro, M. L. G., Almeida Filho, E. S., Mársico, E. T., ... & Freitas, M. Q. Quality Index Method (QIM) for ice stored gutted Amazonian Pintado (*Pseudoplatystoma fasciatum* × *Leiarius marmoratus*) and estimation of shelf life. *LWT-Food Science and Technology*, 2016, 65: 363-370.
- Li, K., Bao, Y., Luo, Y., Shen, H., & Shi, C. Formation of biogenic amines in crucian carp (*Carassius auratus*) during storage in ice and at 4° C. *Journal of food protection*, 2012, 75.12: 2228-2233.
- Lindsay, R. C.; Heil, T. P. Flavor tainting of fish in the Upper Wisconsin River caused by alkyl-and thiophenols. *Water Science and Technology*, 1992, 25.2: 35-40.
- Lindholm-Lehto, P. C., Vielma, J., Pakkanen, H., & Alén, R. Depuration of geosmin-and 2-methylisoborneol-induced off-flavors in recirculating

aquaculture system (RAS) farmed European whitefish *Coregonus lavaretus*. *Journal of food science and technology*, 2019, 56.10: 4585-4594.

- Liu, Y., Huang, Y., Wang, Z., Cai, S., Zhu, B., & Dong, X. Recent advances in fishy odour in aquatic fish products, from formation to control. *International Journal of Food Science & Technology*, 2021, 56.10: 4959-4969.
- Loeffler, C. R., Spielmeier, A., Friedemann, M., Kapp, K., Schwank, U., Kappenstein, O., & Bodi, D. Food Safety Risk in Germany From Mislabeled Imported Fish: Ciguatera Outbreak Trace-Back, Toxin Elucidation, and Public Health Implications. *Frontiers in Marine Science*, 2022, 9.
- Macchioni, F., Chelucci, L., Torracca, B., Prati, M. C., & Magi, M. Fishes and their parasites in the water district of Massaciuccoli (Tuscany, Central Italy). *Veterinaria Italiana*, 2015, 51.3: 199-203.
- Mackiewicz, John S. Caryophyllidea (Cestoidea): a review. *Experimental Parasitology*, 1972, 31.3: 417-512.
- Mackiewicz, J. S. Order Caryophyllidea van Beneden in Carus, 1863. *Keys to the cestode parasites of vertebrates.*, 1994, 21-43.
- Macpherson, C. N., Gottstein, B., & Geerts, S. Parasitic food-borne and water-borne zoonoses. *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties*, 2000, 19.1: 240-253.
- Martinsdóttir, E., Sveinsdóttir, K., Luten, J., Schelvis-Smit, R., & Hyldig, G. Reference manual for the fish sector: sensory evaluation of fish freshness. 2001.

- Mattiucci, Simonetta; Nascetti, Giuseppe. Advances and trends in the molecular systematics of anisakid nematodes, with implications for their evolutionary ecology and host—parasite co-evolutionary processes. *Advances in parasitology*, 2008, 66: 47-148.
- Mattiucci, S., Garcia, A., Cipriani, P., Santos, M. N., Nascetti, G., & Cimmaruta, R. Metazoan parasite infection in the swordfish, *Xiphias gladius*, from the Mediterranean Sea and comparison with Atlantic populations: implications for its stock characterization. *Parasite*, 2014, 21.
- Matvienko, N., Vaschenko, A., Nazarov, A., & Aishpur, A. Eustrongylidosis in predatory fish species of Dnieper reservoirs. *Zoology and Ecology*, 2015, 25.3: 235-238.
- Mazzariol, S., Corazzola, G., Rubini, S., Quaglio, F., Perolo, A., Gustinelli, A., ... & Centelleghes, C. Illegal fishing with electrofishing devices in the Po river basin, Emilia Romagna, Italy. *Scientific Reports*, 2021, 11.1: 1-6.
- Menconi, V., Tedesco, P., Pastorino, P., Confortini, I., Esposito, G., Tomasoni, M., ... & Prearo, M. Could Fish Feeding Behaviour and Size Explain Prevalence Differences of the Nematode *Eustrongylides excisus* among Species? The Case Study of Lake Garda. *Water*, 2021, 13.24: 3581.
- Menconi, V., Riina, M. V., Pastorino, P., Mugetti, D., Canola, S., Pizzul, E., ... & Prearo, M. First occurrence of *Eustrongylides* spp.(Nematoda: Dioctophymatidae) in a subalpine lake in northwest Italy: New data on distribution and host range. *International journal of environmental research and public health*, 2020, 17.11: 4171.
- Measures, Lena N. The development of *Eustrongylides tubifex* (Nematoda: Dioctophymatoidea) in oligochaetes. *The Journal of parasitology*, 1988, 294-304.

- Mohammadi, Mansoureh; Mirza Alizadeh, Adel; Mollakhalili Meybodi, Neda. Off-Flavors in Fish: A Review of Potential Development Mechanisms, Identification and Prevention Methods. *Journal of Human Environment and Health Promotion*, 2021, 7.3: 120-128.
- Moravec, František. Parasitic nematodes of freshwater fishes of Europe. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994.
- Moretto, J. A., Freitas, P. N., Souza, J. P., Oliveira, T. M., Brites, I., & Pinto, E. Off-flavors in Aquacultured Fish: Origins and Implications for consumers. *Fishes*, 2022, 7.1: 34.
- Morley, N. J.; Lewis, J. W. Influence of *Triaenophorus nodulosus* plerocercoids (Cestoda: Pseudophyllidea) on the occurrence of intestinal helminths in the perch (*Perca fluviatilis*). *Journal of helminthology*, 2017, 91.6: 711-717.
- Nagasawa, Kazuya. The biology of *Contracaecum osculatum* sensu lato and *C. osculatum* A (Nematoda: Anisakidae) in Japanese waters: a review. *Biosphere Sci*, 2012, 51: 61-69.
- Nielsen, Durita; Green, David. Developing a Quality Index grading tool for hybrid striped bass (*Morone saxatilis* × *Morone chrysops*) based on the Quality Index Method. *International journal of food science & technology*, 2007, 42.1: 86-94.
- Nielsen, Jette; Hyldig, Grethe; Larsen, ErlinG. ‘Eating Quality’ of fish—A review. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 2002, 11.3-4: 125-141.

- Nieuwenhuizen, Natalie E.; Lopata, Andreas L. Anisakis—a food-borne parasite that triggers allergic host defences. *International journal for parasitology*, 2013, 43.12-13: 1047-1057.
- Nilsson, Goran E. Surviving anoxia with the brain turned on. *Physiology*, 2001, 16.5: 217-221.
- North, B. P., Turnbull, J. F., Ellis, T., Porter, M. J., Migaud, H., Bron, J., & Bromge, N. R.. The impact of stocking density on the welfare of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 2006, 255.1-4: 466-479.
- Novakov, N., Bjelic-Cabrilo, O., Cirkovic, M., Jubojevic, D., Lujic, J., Davidov, I., & Jovanovic, M. Eustrongylidosis of European catfish (*Silurus glanis*). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 2013, 19.1: 72-76.
- Oros, M., Scholz, T., Hanzelová, V., & Mackiewicz, J. S.. Scolex morphology of monozoic cestodes (Caryophyllidea) from the Palaearctic Region: a useful tool for species identification. *Folia Parasitologica*, 2010, 57.1: 37
- Özogul, Y., Özyurt, G., Özogul, F., Kuley, E., & Polat, A. Freshness assessment of European eel (*Anguilla anguilla*) by sensory, chemical and microbiological methods. *Food chemistry*, 2005, 92.4: 745-751.
- Pampiglione, S., Rivasi, F., Criscuolo, M., De Benedittis, A., Gentile, A., Russo, S., ... & Villani, M. Human anisakiasis in Italy: a report of eleven new cases. *Pathology-Research and Practice*, 2002, 198.6: 429-434.
- Pardo, Miguel Ángel; Jiménez, Elisa. DNA barcoding revealing seafood mislabeling in food services from Spain. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2020, 91: 103521.

- Pardo, M. Á., Jiménez, E., Viðarsson, J. R., Ólafsson, K., Ólafsdóttir, G., Daniélsdóttir, A. K., & Pérez-Villareal, B. DNA barcoding revealing mislabeling of seafood in European mass caterings. *Food Control*, 2018, 92: 7-16.
- Procarione, Lynne S.; Barry, Terence P.; Malison, Jeffrey A. Effects of high rearing densities and loading rates on the growth and stress responses of juvenile rainbow trout. *North American Journal of Aquaculture*, 1999, 61.2: 91-96.
- Protasova E.N. 1977: [Bothriocephalata – Tapeworm Helminths of Fish.] Principles of Cestodology. K.M. Ryzhikov (Ed.). Volume 8. Nauka, Moscow, 298 pp.
- Pascual, S., Rodríguez, H., Pierce, G. J., Hastie, L. C., & González, A. F. The NE Atlantic European hake: A neglected high exposure risk for zoonotic parasites in European fish markets. *Fisheries Research*, 2018, 202: 69-78.
- Pope, Kevin L.; Willis, David W. Seasonal influences on freshwater fisheries sampling data. *Reviews in Fisheries Science*, 1996, 4.1: 57-73.
- Qiu, L., Zhang, M., Bhandari, B., & Yang, C. Shelf life extension of aquatic products by applying nanotechnology: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2022, 62.6: 1521-1535.
- Ritter, D. O., Lanzarin, M., Novaes, S. F., Monteiro, M. L. G., Almeida Filho, E. S., Mársico, E. T., ... & Freitas, M. Q. Quality Index Method (QIM) for gutted ice-stored hybrid tambatinga (*Colossoma macropomum* × *Piaractus brachypomum*) and study of shelf life. *LWT-Food Science and Technology*, 2016, 67: 55-61.

- Rodger, H. D. *Diphyllobothrium* sp. infections in freshwater-reared Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 1991, 95.1-2: 7-14.
- Rodrigues, B. L., Canto, A. C. V. D. C. S., Costa, M. P. D., Silva, F. A. D., Marsico, E. T., & Conte-Junior, C. A. Fatty acid profiles of five farmed Brazilian freshwater fish species from different families. *PLoS One*, 2017, 12.6: e0178898.
- Rokicki, Jerzy; Rolbiecki, Leszek; Skóra, Agnieszka. Helminth parasites of twaite shad, *Alosa fallax* (Actinopterygii: Clupeiformes: Clupeidae), from the southern Baltic Sea. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 2009, 39.1.
- Romano, Luis Alberto; Pedrosa, Virgínia Fonseca. Neoplasias in Fish: Review of the last 20 years. A Look from the Pathology. *Annual Research & Review in Biology*, 2020, 134-153.
- Rusconi, A., Prati, P., Bragoni, R., Castelli, M., Postiglione, U., Rigamonti, S., ... & Olivieri, E. Occurrence of *Eustrongylides excisus* (Nematoda: Dioctophymatidae) in European Perch (*Perca fluviatilis*) and Great Cormorant (*Phalacrocorax carbo*) in Lake Annone, Northern Italy. *The Journal of Parasitology*, 2022, 108.2: 209-216.
- Sant'ana, Léa Silvia; Soares, Sílvia; Vaz-Pires, Paulo. Development of a quality index method (QIM) sensory scheme and study of shelf-life of ice-stored blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*). *LWT-Food Science and Technology*, 2011, 44.10: 2253-2259.
- Sattari, Masoud. The occurrence and intensity of *Eustrongylides excisus* (Nematoda: Dioctophymidae) in some bony fish species of the Caspian Sea and its basin. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 2004, 2.1: 9-12.

- Schall, B. J.; Schoenebeck, C. W.; Koupal, K. D. Seasonal sampling influence on population dynamics and yield. 2021.
- Schmidt G.D. 1986: CRC Handbook of Tapeworm Identification. CRC Press, Boca Raton, Florida, 675 pp.
- Schneider, Robert; Nicholson, Bruce L. Bacteria associated with fin rot disease in hatchery-reared Atlantic salmon (*Salmo salar*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1980, 37.10: 1505-1513.
- Scholz, Tomáš; Kuchta, Roman; Oros, Mikuláš. Tapeworms as pathogens of fish: A review. Journal of Fish Diseases, 2021, 44.12: 1883-1900.
- Scholz T, Paggi L, Di Cave D, Orecchia P. (1992) On some cestodes parasitizing freshwater fish in Italy. Parassitologia. 1992 Dec;34(1-3): 167-78.
- Scholz, T. Early development of *Khawia sinensis* Hsü, 1935 (Cestoda: Caryophyllidea), a carp parasite. Folia Parasitol, 1991, 38: 133-142.
- Semenova, M. K. The Role of Copepods in the Life Cycle of *Contracaecum Micropapillatum* Ascaridata, Anisakidae. National Research Council, Canada Institute for Scientific and Technical Information, 1979.
- Shamsi, Shokoofeh; Butcher, Andrew R. First report of human anisakidosis in Australia. The Medical Journal of Australia, 2011, 194.4: 199-200.
- Shamsi, Shokoofeh. Parasite loss or parasite gain? Story of *Contracaecum* nematodes in antipodean waters. Parasite epidemiology and control, 2019, 4: e00087.

- Simeonidou, S.; Govaris, A.; Vareltzis, K. Quality assessment of seven Mediterranean fish species during storage on ice. *Food research international*, 1997, 30.7: 479-484.
- Skóra, M. E., Sapota, M. R., Skóra, K. E., & Pawelec, A. Diet of the twaite shad *Alosa fallax* (Lacépède, 1803)(Clupeidae) in the Gulf of Gdansk, the Baltic Sea. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 2012, 41.3: 24-32.
- Spalding, Marilyn G.; Bancroft, G. Thomas; Forrester, Donald J. The Epizootiology Of Eustrongylidosis In Wading Birds (Ciconiiformes) in Florida. *Journal of Wildlife Diseases*, 1993, 29.2: 237-249.
- Spalding, Marilyn G.; Forrester, Donald J. Eustrongylidosis. In: *Parasitic diseases of wild birds*. 2009.
- Squadrone, S., Prearo, M., Brizio, P., Gavinelli, S., Pellegrino, M., Scanzio, T., ... & Abete, M. C. Heavy metals distribution in muscle, liver, kidney and gill of European catfish (*Silurus glanis*) from Italian Rivers. *Chemosphere*, 2013, 90.2: 358-365.
- Stecyk, J. A., Stensløkken, K. O., Farrell, A. P., & Nilsson, G. E. Maintained cardiac pumping in anoxic crucian carp. *Science*, 2004, 306.5693: 77-77.
- Stejskal, V., Matoušek, J., Prokešová, M., Podhorec, P., Křišťan, J., Polícar, T., & Gebauer, T. Fin damage and growth parameters relative to stocking density and feeding method in intensively cultured European perch (*Perca fluviatilis* L.). *Journal of fish diseases*, 2020, 43.2: 253-262.
- Stroe M.D., Guriencu R.C., Athanosoupolos L., Ion G., Coman E., Mocanu E.E. 2022, Health Profile Of Some Freshwater Fishes Collected From Danube River Sector (Km 169-197) In Relation To Water Quality Indicators.

Scientific Papers. Series D. Animal Science, Vol. LXV, Issue 1, ISSN 2285-5750, 654-663.

- Sykes, A. V., Oliveira, A. R., Domingues, P. M., Cardoso, C. M., Andrade, J. P., & Nunes, M. L. Assessment of European cuttlefish (*Sepia officinalis*, L.) nutritional value and freshness under ice storage using a developed Quality Index Method (QIM) and biochemical methods. *LWT-Food science and technology*, 2009, 42.1: 424-432.
- Sveinsdottir, K., Martinsdottir, E., Hyldig, G., Jørgensen, B., & Kristbergsson, K. Application of quality index method (QIM) scheme in shelf-life study of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Food Science*, 2002, 67.4: 1570-1579.
- Valero, A., Terrados, S., Díaz, V., Reguera, V., & Lozano, J. Determination of IgE in the serum of patients with allergic reactions to four species of fish-parasite anisakids. *Journal of Investigational Allergology & Clinical Immunology*, 2003, 13.2: 94-98.
- Valtonen, E. T.; Rintamäk, I. P.; Lappalainen, M. *Triaenophorus Nodulosus* And *T. Crassus* In Fish From Northern FINLAND. 1989.
- Vovk, N.; Kononenko, R.; Shvets, A. Influence of *Triaenophorus nodulosus* invasion on morphobiological parameters of European perch (*Perca fluviatilis* L.) in Shatsk National Nature Park reservoirs. *Ukrainian Journal of Ecology*, 2020, 10.4: 250-256.
- Williams, Michelle; Hernandez-Jover, Marta; Shamsi, Shokoofeh. Parasites of zoonotic interest in selected edible freshwater fish imported to Australia. *Food and Waterborne Parasitology*, 2022, 26: e00138.

- Williams, Hartford. Parasitic worms of fish. CRC Press, 1994. by eating sushi. *New England Journal of Medicine*, 1989, 320.17: 1124-1126.
- Wilson, Alphas D.; Oberle, Charisse S.; Oberle, Daniel F. Detection of off-flavor in catfish using a conducting polymer electronic-nose technology. *Sensors*, 2013, 13.12: 15968-15984.
- Wittner, M., Turner, J. W., Jacquette, G., Ash, L. R., Salgo, M. P., & Tanowitz, H. B. Eustrongylidiasis—a parasitic infection acquired by eating sushi. *New England Journal of Medicine*, 1989, 320.17: 1124-1126.
- Xiong, F., Wang, G. T., Wu, S. G., & Nie, P. Development of Eustrongylides ignotus (Nematoda: Dioctophmida) in domestic ducks (*Anas platyrhynchos domestica* (L.)). *Journal of Parasitology*, 2009, 95.5: 1035-1039.
- Yorimitsu, N., Hiraoka, A., Utsunomiya, H., Imai, Y., Tatsukawa, H., Tazuya, N., ... & Michitaka, K. Colonic intussusception caused by anisakiasis: a case report and review of the literature. *Internal Medicine*, 2013, 52.2: 223-226.
- Zhang, X., Tinacci, L., Xie, S., Wang, J., Ying, X., Wen, J., & Armani, A. Caviar products sold on Chinese Business to customer (B2C) online platforms: Labelling assessment supported by molecular identification. *Food Control*, 2022, 131: 108370.
- Zhu, X., Gasser, R. B., Podolska, M., & Chilton, N. B. Characterisation of anisakid nematodes with zoonotic potential by nuclear ribosomal DNA sequences. *International Journal for Parasitology*, 1998, 28.12: 1911-1921.
- FDA, Eustrongylides species. In *Bad bug book, foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins* (pp. 158–162). Available, 2012, from:

<https://www.fda.gov/files/food/published/Bad-Bug-Book-2nd-Edition-%28PDF%29.pdf>

7 SITOGRAFIA

- WoRMS,
2021. <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=19962>
- Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>