

CARATTERIZZAZIONE BIOMOLECOLARE DI NEMATODI ANISAKIDI IN SPECIE ITTICHE MARINE PESCATE NEL NORD SARDEGNA

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF ANISAKID NEMATODES IN FISHES OF NORTHERN SARDINIAN SEA

Tedde T.¹, Piras M.C.², Merella P.², Mele P.¹, Lorenzoni G.¹, Rosa M.N.¹, Salza S.¹, Assaretti A.¹, Santoru F.¹, Marongiu E.¹, Virgilio S.¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Dipartimento di Igiene degli Alimenti, Sassari;

²Università di Sassari, Dipartimento di Biologia Animale, Sezione di Parassitologia e Malattie Parassitarie

SUMMARY

The authors report results of analysis carried out during 2008-2010 for identification and molecular characterization of larval *Anisakis* nematodes isolated from fishes of the northern Sardinian sea.

KEYWORDS

parasitic zoonosis, *Anisakis pegreffii*, *Anisakis physeteris*, PCR-RFLP.

L'anisakidosi è una zoonosi parassitaria causata da larve di nematodi appartenenti a diversi generi della famiglia Anisakidae, fra cui *Anisakis*, *Contracaecum* e *Pseudoterranova*. Gli stadi larvali di *Anisakis* sp. rappresentano un potenziale rischio per la salute umana (1) in seguito al consumo di ospiti paratenici, quali pesci marini o molluschi cefalopodi crudi, poco cotti, salati, leggermente marinati o affumicati a freddo. Tra i mesi di ottobre 2008 e giugno 2010 sono stati esaminati complessivamente 869 campioni appartenenti a 8 specie di teleostei, di cui 138 *Merluccius merluccius*, 79 *Micromesistius pou-tassou*, 62 *Phycis blennoides*, 374 *Sardina pilchardus*, 40 *Sardinella aurita*, 45 *Scomber japonicus*, 77 *Trachurus mediterraneus*, 54 *Trachurus trachurus*. I campioni esaminati sono stati sottoposti ad esame visivo ed osservazione allo stereomicroscopio, seguito da digestione enzimatica del tessuto muscolare. Nel corso dell'indagine sono state complessivamente isolate 2619 larve di Anisakidi, di cui 942 appartenenti al genere *Hysterothylacium* e 1677 al genere *Anisakis*. Le larve del genere *Anisakis* isolate sono state differenziate in tipo I (1625) e tipo II (52) mediante osservazione al microscopio ottico ed una parte di queste (50%) è stata sottoposta ad analisi biomolecolare per l'identificazione della specie mediante

l'amplificazione di una porzione della regione genomica nucleare ITS con l'utilizzo dei primers *forward* APEF per *A. pegreffii* e APHF per *A. physeteris* e del primer reverse NC2 per entrambe le specie (2). In una seconda fase è stata effettuata una ulteriore identificazione di specie delle larve del genere *Anisakis* mediante PCR-RFLP (3). L'utilizzo di primers specie-specifici ha consentito di identificare come *A. pegreffii* tutte le larve del Tipo I esaminate (812), con un prodotto di amplificazione di 577 bp e come *A. physeteris* tutte le larve del Tipo II, con un amplificato di 637 bp. La metodica PCR-RFLP ha confermato i risultati ottenuti, in quanto in base alla combinazione dei patterns RFLP tutte le forme larvali del Tipo I sono risultate appartenenti alla specie *A. pegreffii* e tutte le larve del Tipo II alla specie *A. physeteris*.

BIBLIOGRAFIA

1. Pampiglione S., Rivasi F., Criscuolo M., De Benedettis A., Gentile A., Russo S., Testini M., Villani M. (2002). Human Anisakiasis in Italy: A report of Eleven New Cases. *Pathology Research and Practice* 198: 429-434.
2. Fang W., Xu S., Zhang S., Wang Y., Chen X., Luo D. (2010) Multiple primer PCR for the identification of anisakid nematodes

- from Taiwan Strait. *Experimental Parasitology* 124: 197-201.
3. D'Amelio S., Mathiopulos KD., Santos CP., Pugachev ON., Webb SC., Picanco MO., Paggi L. (2000). Genetic markers in ribosomal DNA for the identification of members of the genus *Anisakis* defined by PCR-based restriction fragment length polymorphism. *International Journal Parasitology* 30: 223-226