



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

**DOTTORATO IN MALATTIE INFETTIVE, MICROBIOLOGIA E
SANITA' PUBBLICA**

XXX CICLO

**ECHINOCOCCOSI CISTICA NELL'AREA DI RIETI:
CONOSCENZA DEL FENOMENO E PROPOSTA DI UN
MODELLO DI VALUTAZIONE DEI RISCHI PER I
LAVORATORI DEL SETTORE AGRO-ZOOTECNICO**

Relatore
Prof. Stefano D'Amelio

Candidata
Agnese Martini

Anno Accademico 2016/2017

INDICE

1. IL SETTORE AGRO-ZOOTECNICO

1.1.	La tutela della salute e sicurezza nel settore agro-zootecnico.....	5
1.2.	Situazione attuale in Europa.....	6
1.3.	Situazione attuale in Italia.....	8
1.3.1	<i>Dati italiani: settore zootecnico.....</i>	<i>10</i>

2. TECNOLOGIA, CICLI PRODUTTIVI E RISCHI PER LA SALUTE NEL SETTORE AGRO-ZOOTECNICO

2.1	Il ciclo produttivo degli allevamenti e i rischi per la salute nel settore agro-zootecnico.....	12
2.2	Il rischio biologico.....	15
2.2.1	<i>Normativa di riferimento: Testo Unico sulla sicurezza nei luoghi di lavoro.....</i>	<i>15</i>
2.2.2	<i>Esposizione a rischio biologico: il Titolo X.....</i>	<i>16</i>
2.2.3	<i>L'applicazione della normativa sulla tutela della sicurezza e salute nei luoghi di lavoro nel settore agro-zootecnico.....</i>	<i>20</i>
2.3	Le zoonosi professionali.....	22
2.3.1	<i>Definizione.....</i>	<i>23</i>
2.3.2	<i>Sistema di sorveglianza delle zoonosi.....</i>	<i>25</i>
2.3.3	<i>Le zoonosi professionali come malattia lavoro-correlata.....</i>	<i>28</i>
2.3.4	<i>Le principali zoonosi professionali del settore agro-zootecnico.....</i>	<i>30</i>

3. ECHINOCOCCOSI CISTICA O IDATIDOSI

3.1.	Introduzione.....	33
3.2.	Cenni storici.....	36
3.3.	Tassonomia.....	37
3.4.	La morfologia e biologia di <i>Echinococcus</i>	45
3.5.	Ciclo di vita di <i>Echinococcus</i>	58

3.6.	Metacestodi nell'ospite umano e aspetti clinici.....	62
3.7.	Diagnosi dell'echinococcosi cistica: tecniche di diagnostica per immagini.....	65
3.7.1.	<i>Ecografia o ultrasonografia.....</i>	66
3.7.2.	<i>Tomografia computerizzata.....</i>	68
3.7.3.	<i>Risonanza magnetica nucleare.....</i>	69
3.7.4.	<i>Diagnostica per immagini in caso di EC polmonare.....</i>	70
3.8.	Diagnosi di echinococcosi cistica: tecniche sierologiche.....	70
3.9.	Criteri diagnostici di echinococcosi cistica.....	74
3.10.	Gestione clinica e terapia.....	76
3.10.1.	<i>Trattamento delle cisti addominali.....</i>	77
3.10.2.	<i>Approccio "watch-and-wait"</i>	78
3.11.	Distribuzione dell'echinococcosi cistica nel mondo.....	79
3.12.	Distribuzione in Europa.....	79
3.12.1.	<i>Dati sugli animali.....</i>	81
3.12.2.	<i>Dati sull'uomo.....</i>	84
3.13.	Distribuzione in Italia.....	88
3.13.1.	<i>Echinococcus in Italia: genotipi identificati.....</i>	88
3.13.2.	<i>Distribuzione di EC in Italia: dati animali.....</i>	89
3.13.3.	<i>Distribuzione di EC in Italia: dati nell'uomo.....</i>	90

4. OBIETTIVI DELLA RICERCA

4.1.	Premessa.....	94
4.2.	Obiettivo generale.....	95
4.3.	Obiettivi specifici.....	96

5. MATERIALI E METODI

5.1.	Fasi della ricerca.....	97
-------------	--------------------------------	-----------

6. RISULTATI

6.1.	Analisi del contesto epidemiologico.....	106
6.1.1.	<i>Presenza negli ospiti intermedi.....</i>	106

6.1.2.	<i>Casi registrati nell'uomo.....</i>	<i>110</i>
6.2.	Indagine nel territorio di Rieti: applicazione del protocollo di studio.....	113
6.2.1.	<i>Caratteristiche socio-demografiche del campione.....</i>	<i>113</i>
6.2.2.	<i>Dati sierologici e clinico-anamnestici.....</i>	<i>114</i>
6.2.3.	<i>Indice sintetico di rischio: IREC.....</i>	<i>121</i>
7.	DISCUSSIONE E CONCLUSIONI.....	123
8.	BIBLIOGRAFIA.....	130
9.	Allegati.....	153

IL SETTORE AGRO-ZOOTECNICO

1.1 La tutela della salute e sicurezza nel settore agro-zootecnico

La necessità della tutela della salute dei lavoratori appartenenti al settore agro-zootecnico, sebbene nei secoli passati il sistema economico italiano fosse principalmente fondato sull'agricoltura e l'allevamento, è stata riconosciuta ed attuata dalla legislazione italiana, e dal mondo scientifico, molto più tardivamente rispetto a quella del settore industriale. Infatti, l'assicurazione obbligatoria contro gli infortuni sul lavoro è stata attuata in Italia con l'applicazione della Legge promulgata dal Re il 17 marzo 1898 n. 80. La Legge era suddivisa in quattro Titoli, in particolare nel primo, "Limiti ed applicazioni della legge", venivano enumerate le industrie alle quali la legge doveva essere applicata, stabilendo quali persone agli effetti di essa dovevano qualificarsi come "operai". I criteri che servivano per definire questa qualifica (art. 2 della legge) erano da ricercare nel luogo di lavoro (fuori della propria abitazione e, in particolare, in industrie, miniere, costruzioni ed imprese edili), nel tipo di mansione svolta e nella misura della mercede da essi percepita. Venivano inclusi in questa categoria anche coloro che partecipavano manualmente al lavoro (che doveva essere retribuito), chi sovrintendeva al lavoro degli altri, purché percepisse un salario non superiore alle sette lire al giorno e gli apprendisti, con o senza salario. Esclusi quindi i lavoratori agricoli e quelli a domicilio (Quaranta, 2002). La mancata inclusione dei lavoratori agricoli nella prima norma sull'assicurazione obbligatoria era legata all'idea che l'infortunio fosse una prerogativa del settore industriale e che il lavoro rurale non esponesse a pericoli (Allevi, 1927). In realtà, il riconoscimento legislativo delle malattie professionali in agricoltura, inizialmente limitato a sette tecnopatie, venne introdotto solo nel 1958 con l'emanazione della Legge 313 del 21 marzo e confermato l'anno successivo (1959) con il D.P.R. n. 417 e nel 1965 con il D.P.R. 1124.

Sul piano medico-scientifico, a Milano, nel 1932, si tenne il X Congresso Nazionale di Medicina del Lavoro che vide un primo inquadramento delle patologie che potevano colpire i lavoratori del settore agro-zootecnico e vennero elencate: le patologie di tipo infettivo-parassitario (rabbia, afta epizootica, carbonchio, morva, malattia di Bang, febbre maltese, tetano, tifo, paratifo, botulismo, febbre da pappataci, tubercolosi, anchilostomiasi) e quelle legate alla movimentazione dei carichi e alla postura.

Il successivo Congresso dedicato all'agricoltura venne organizzato nel 1953 a Firenze, ad indirizzo prevalentemente anti-infortunistico, e tre anni dopo venne emanato il D.P.R. 303 (19 marzo) che limitò fortemente le azioni di tutela nel settore poiché esonerava i lavoratori del settore e i loro familiari dall'obbligo dei controlli sanitari (art. 49). Nonostante ciò il mondo scientifico cominciò ad interessarsi al settore, studiando le patologie emergenti e riemergenti e sviluppando e stimolando azioni di tutela per la salvaguardia dei lavoratori del settore.

1.2 Il settore agro-zootecnico: situazione attuale in Europa

Sia in Italia che, in generale, in Europa l'agricoltura svolge nell'economia dei Paesi un ruolo importante, anche se sono presenti differenze geografiche e culturali che comportano modalità operative di coltura e allevamento estremamente diversificate.

I dati Eurostat mostrano come la struttura dell'agricoltura negli Stati membri dell'Unione europea (UE) varia in funzione delle differenze geologiche, topografiche e climatiche, in base alle risorse naturali, nonché della diversità delle attività regionali, delle infrastrutture e delle abitudini sociali.

La manodopera totale delle aziende agricole nell'UE-28 (Unione Europea 28 Paesi), pari a 9,5 milioni di unità lavorative/anno nel 2013, è costituita per il 92% da lavoratori regolari (8,7 milioni) (Figura 1).

La variazione complessiva della manodopera delle aziende agricole dell'UE-28 nel periodo 2007-2013 è stata pari a 2,3 milioni di unità lavorative-anno (ULA), equivalente a una riduzione del 19,8%. In tale periodo, infatti, la manodopera delle aziende agricole risulta diminuita in quasi tutti gli Stati membri dell'UE, con le importanti eccezioni di Irlanda, Ungheria e Malta, dove la manodopera è aumentata. In termini percentuali, i cali più significativi sono stati registrati in Slovacchia, Italia, Cipro e Bulgaria, dove la rispettiva manodopera si è ridotta di almeno un terzo.

I lavoratori regolari hanno costituito più di quattro quinti della manodopera delle aziende agricole in ciascuno degli Stati membri dell'UE, registrando la percentuale più bassa in Spagna, con l'81%, mentre in Lettonia la manodopera delle aziende agricole era costituita praticamente da soli lavoratori regolari. Tra questi ultimi, la ripartizione tra lavoratori a tempo pieno e altri lavoratori è variata notevolmente tra gli Stati membri dell'UE. I lavoratori regolari a tempo pieno rappresentavano più della metà

della manodopera delle aziende agricole in 11 Stati membri, raggiungendo il picco di quasi tre quarti (74%) in Lussemburgo. Al contrario, la quota di lavoratori regolari a tempo pieno nella manodopera delle aziende agricole era compresa tra un quarto e un quinto in Austria, Croazia e Lituania, mentre la percentuale era inferiore al 7% in Romania.

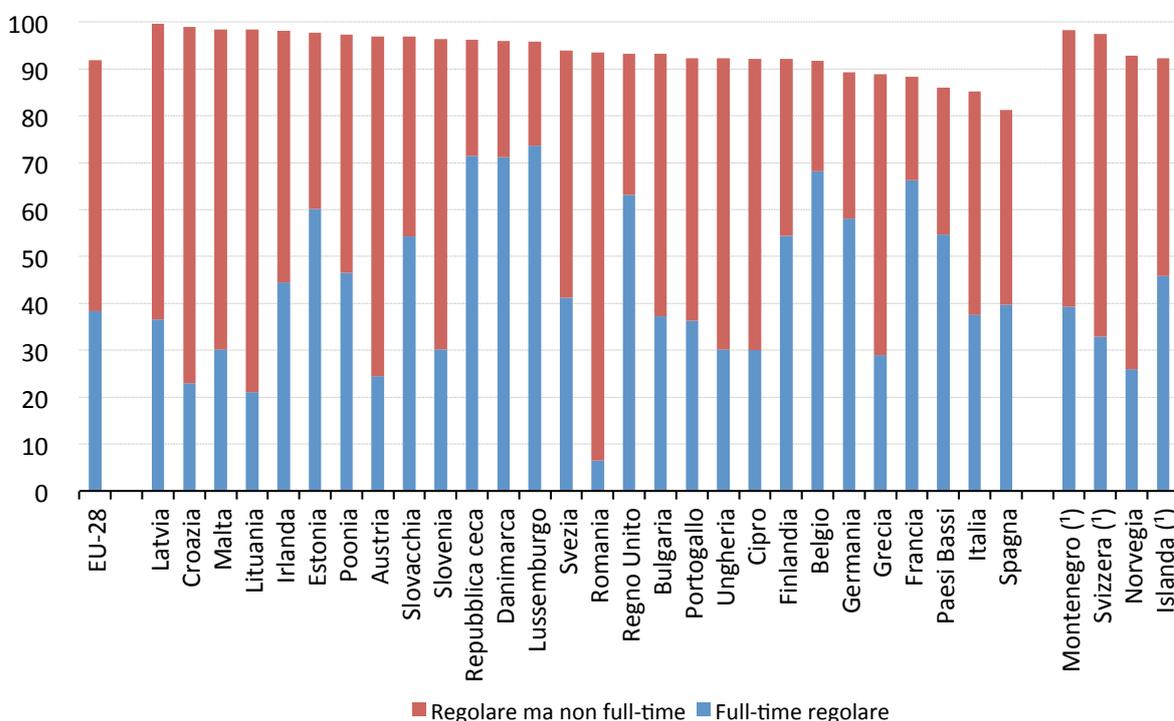
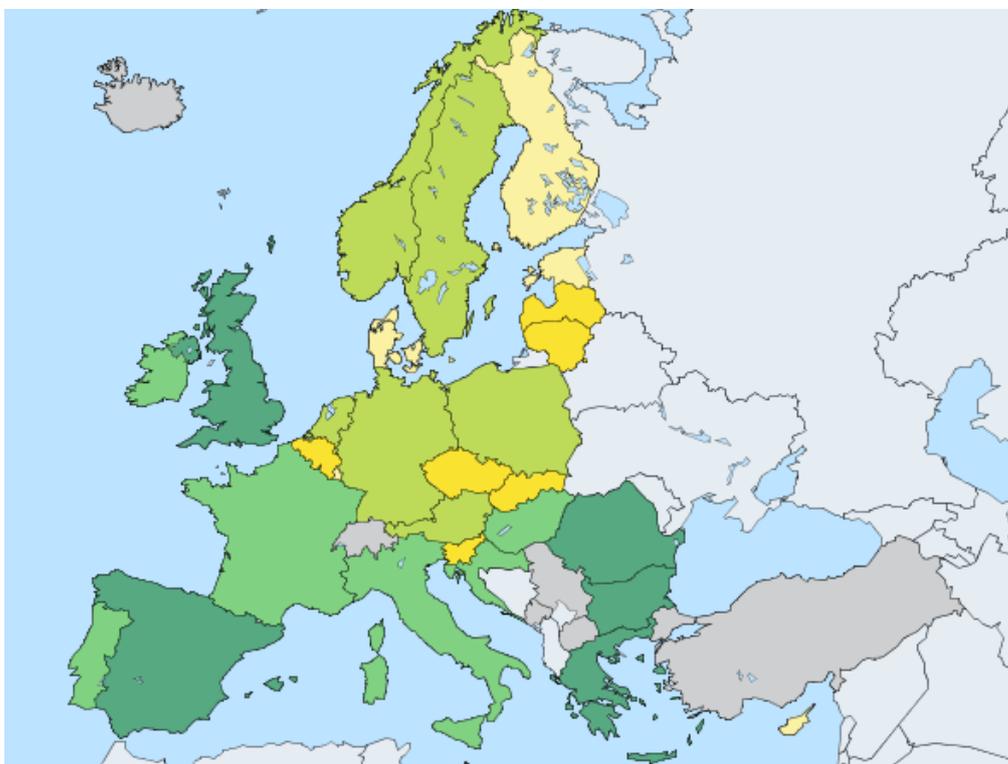


Figura 1 - Percentuale di lavoratori regolari sulla manodopera delle aziende agricole e distribuzione per intensità di lavoro (Fonte: Eurostat, 2013).

Sebbene in Europa sia i lavoratori che le aziende agricole stiano numericamente diminuendo, negli ultimi anni, lo sviluppo del settore è fortemente aumentato, sviluppando, in risposta alle esigenze di produzione e di mercato, caratteristiche nuove.

Per quanto riguarda il settore zootecnico, i dati europei (fonte: Eurostat) mostrano che nel 2013 il bestiame degli Stati membri dell'UE-28 è stato pari a 130 milioni di unità di bestiame (UB). Il numero totale di animali nell'UE-28 è diminuito tra il 2007 e il 2013 di 6,6 milioni di UB: un calo pari al 4,8%. In totale 21 Stati membri dell'UE hanno registrato un calo del numero di capi di bestiame tra questi anni, con riduzioni prossime al 30% a Cipro e a Malta. Tra i sette Stati membri dell'UE con un numero di

capi di bestiame maggiore nel 2013 rispetto al 2007, gli aumenti registrati sono stati inferiori all'1,0% in Irlanda, Portogallo e Spagna, intorno al 2,0% in Finlandia e Germania e hanno raggiunto un valore poco al di sotto del 3,0% in Lussemburgo e nei Paesi Bassi. La [Figura 2](#) mostra le proprietà agricole che possiedono bestiame, in particolare ovini.



Minimo valore: 0,22 Massimo valore: 232,39

Leggenda

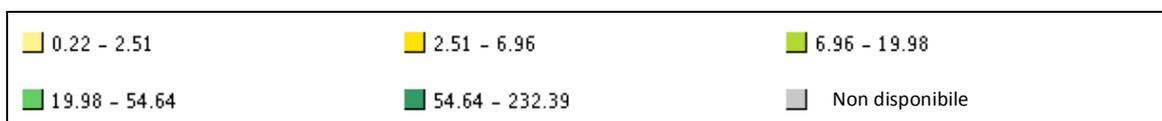


Figura 2 - Proprietà agricole con bestiame (1000 – 2013). Tipologia: ovini (Fonte: ISTAT, 2010).

1.3 Il settore agro-zootecnico: situazione attuale in Italia

Negli ultimi anni l'azienda agricola italiana, dopo aver compiuto la sua missione di "produttore di beni primari (gli alimenti)", è stata spinta a modificare la sua organizzazione e produzione dal punto di vista sia dell'innovazione sia della

diversificazione. Infatti, si è differenziata la fornitura di servizi e di prodotti che hanno trovato riscontro nelle richieste del mercato (residenziali, turistici, alimentari, legati al tempo libero, industriali, artigianali, eccetera) o della società civile nel suo complesso (ambientali, paesaggistici, difesa idro-geologica, forestali, manutenzione del verde pubblico, eccetera). Tutti questi elementi hanno portato verso un concetto di multifunzionalità dell'attività agricola.

In Italia, il numero di aziende agricole rilevate nell'ultimo censimento (6° Censimento Generale dell'Agricoltura – ISTAT – 2010) è stata pari a 1.620.884. La maggior parte delle aziende (numeri assoluti) è concentrata nelle regioni del Mezzogiorno, in particolare la Puglia, la Campania, la Calabria e la Sicilia sono le prime quattro regioni dove, complessivamente, è stato rilevato quasi il 48% delle aziende agricole italiane. Infatti, la distribuzione territoriale delle aziende agricole mostra una forte polarizzazione tra il Nord e il Mezzogiorno della penisola.

La propensione della popolazione all'attività agricola, in termini di persone che si dedicano a questo tipo di attività (in forma esclusiva o parziale), corrisponde al 64 per mille dei residenti, a livello nazionale. Rientrano in tale categoria tutti i partecipanti alle attività agricole in diversa forma: a) familiari del conduttore dell'azienda, b) altri lavoratori assunti in forma continuativa (manodopera regolare), c) assunti in forma saltuaria, d) non assunti direttamente dall'azienda (manodopera non regolare). Dall'analisi della distribuzione territoriale del fenomeno emerge che i valori più alti si registrano nel Mezzogiorno, in particolare in Basilicata dove si registra il 193 per mille. In quest'ultima regione si osserva anche il massimo provinciale a Matera con valori di 262 per mille. Per quanto riguarda le altre province, i valori massimi si registrano in Puglia (Brindisi al 236 per mille) e in Calabria (Cosenza al 204 per mille). I valori più bassi al contrario sono al Nord, con la regione Lombardia che assume il minimo tra tutte le regioni.

L'analisi della composizione della manodopera agricola vede ancora al centro dell'attività aziendale i componenti familiari che concorrono al 79,1% delle ULA¹, segue l'altra manodopera non regolare con il 12,1% e quella regolare con l'8,8%. Le donne contribuiscono per un 28,5% all'attività lavorativa agricola mentre i giovani

¹ Il numero di ULA (unità lavorative anno) di ciascuna unità locale è calcolato con riferimento al numero di dipendenti occupati mediamente a tempo pieno durante un anno; mentre i lavoratori a tempo parziale e quelli stagionali rappresentano frazioni di unità lavorative annue.

costituiscono il 20% (entrambi gli indicatori sono calcolati in percentuale sulle ULA della manodopera familiare e dell'altra manodopera regolare).

1.3.1 Dati italiani: settore zootecnico

L'attività zootecnica, che risulta strettamente legata all'organizzazione del settore agricolo in Italia, presenta un andamento territoriale notevolmente variegato con fenomeni importanti di concentrazione in alcuni territori (Figura 3). La media italiana mostra che 13,4 aziende su 100 allevano bestiame, mentre a livello regionale si va da un massimo di 41,6 per la Valle d'Aosta e 40,6 per la Lombardia a un minimo di 3,3 per la Puglia.

Le aziende con allevamenti, pari a 217.449 unità, sono equamente distribuite tra le ripartizioni geografiche, anche se emergono rilevanti specializzazioni regionali. Nel complesso allevano 9.957.384 UBA².

La maggiore presenza di bestiame si ha nelle regioni del Nord (in particolare in Lombardia si allevano 2,7 milioni di UBA, in Veneto 1,4 milioni, in Emilia-Romagna 1,2 e in Piemonte 1), laddove si registra anche la maggiore vocazione all'allevamento bovino, suino e avicolo (in tutte le regioni - fatta eccezione per la Liguria - gli UBA di queste specie superano il 90 per cento di quelle complessivamente allevate), mentre, in quelle del Centro-Sud e nelle Isole, le aziende continuano a essere tradizionalmente legate all'allevamento ovi-caprino e bufalino. Tra queste regioni, Sardegna, Toscana, Calabria e Basilicata presentano valori della presenza ovi-caprina superiori al 25 per cento del totale allevato, in particolare la Sardegna raggiunge il valore massimo di UBA allevati in termini assoluti, pari a 0,6 milioni di unità, e il massimo della propensione all'allevamento ovi-caprino in termini di UBA (56% del totale). Le dimensioni delle aziende zootecniche, in termini di UBA allevati per azienda, sono molto diversificate sul territorio nazionale con fenomeni importanti di concentrazione dell'allevamento in alcune province: essendo pari a 48 il numero medio nazionale di UBA per azienda, il 25% delle regioni e il 25% delle province superano tale valore medio. Tali province sono concentrate nelle regioni del Nord mentre tra le regioni del Mezzogiorno,

² L'indice di Unità di Bestiame Adulto (UBA) è una misura della consistenza degli allevamenti, è utilizzato per equiparare tutti gli animali allevati in azienda, in termini di utilizzo delle unità foraggere prodotte dai terreni agricoli e di potenziale carico inquinante. Il calcolo dell'indicatore UBA per azienda considera al denominatore le sole aziende con allevamenti i cui capi concorrono al calcolo degli UBA, ossia si escludono quelle che allevano esclusivamente api e/o altri allevamenti.

Calabria, Basilicata e Sardegna mostrano valori inferiori alla media nazionale per tutte le province. A livello regionale, il valore massimo è riscontrato in Lombardia con 128 UBA (nel cui territorio si distingue la Provincia di Cremona con 315 UBA), seguita dall'Emilia-Romagna con 100 UBA. Tutte le regioni del Centro-Sud e Isole si collocano al di sotto dell'Umbria che presenta un valore medio di 40 UBA allevati per azienda.

In generale, si rileva che l'allevamento ovi-caprino pesa sul comparto zootecnico per un 7,7% in termini di UBA. In questo caso la concentrazione dell'allevamento non è così spinta come per le altre specie di bestiame menzionate.

Nel 2010 il numero medio di capi ovi-caprini allevati per azienda è risultato infatti pari a 126 unità. Il settore ovi-caprino è maggiormente concentrato nelle aziende del Centro-Sud e delle Isole, dove si registrano valori medi maggiori (il massimo è della Sardegna con 236 capi, tra le cui province spicca quella di Sassari con 286 capi mediamente allevati), rispetto al Nord, dove non supera mai i 73 capi (del Veneto). In generale i dati del 6° Censimento mostrano, anche per il settore zootecnico, una tendenza alla concentrazione degli allevamenti in un numero minore di aziende, anche se di dimensioni maggiori (Bellini et al., 2013).

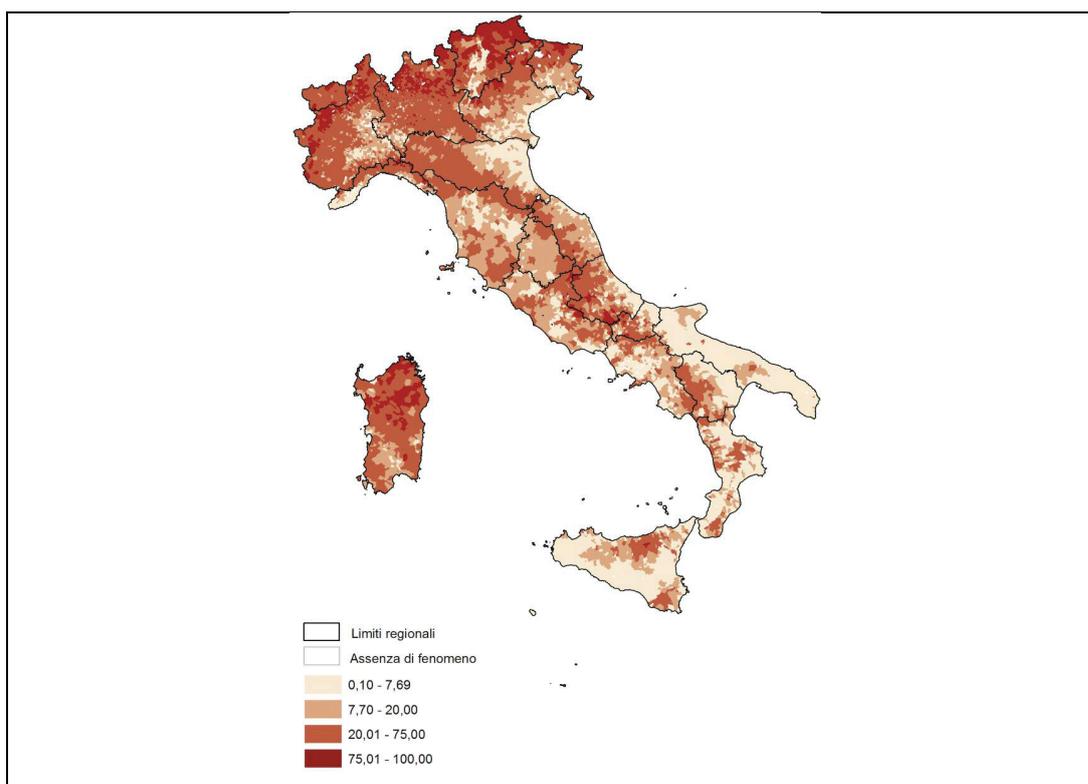


Figura 3 - Aziende con allevamenti per Comune (percentuale sul totale delle aziende)

(Fonte: ISTAT, 2010).

2. TECNOLOGIA, CICLI PRODUTTIVI E RISCHI PER LA SALUTE NEL SETTORE AGRO-ZOOTECNICO

2.1 Il ciclo produttivo degli allevamenti e i rischi per la salute nel settore agro-zootecnico

Il settore zootecnico presenta organizzazioni e cicli produttivi estremamente diversi che creano diversificate situazioni espositive a seconda non solo della specie animale allevata ma anche dalle condizioni operative e dalle modalità produttive.

Una prima classificazione può essere fatta in base alla specie allevata: in Italia, vista la rilevanza nel comparto la divisione avviene principalmente tra allevamento bovino/bufalino (per la produzione di latte e di carne), allevamento ovi-caprino (per la produzione di latte e di carne), allevamento suino e avicolo (per la produzione di carne e di uova). Di minore importanza, vista la ridotta diffusione spesso con caratteristica distribuzione in specifiche aree, è l'allevamento equino, di avicoli minori (oche, anatre, struzzi, fagiani) e l'allevamento di pesci di acqua dolce e salata.

All'interno di questa classificazione grossolana ci sono però enormi differenze. Infatti in Italia sono presenti sia l'allevamento estensivo e la pastorizia che l'allevamento intensivo, associati a distinti cicli produttivi e conseguentemente quadri espositivi diversificati.

L'allevamento estensivo rappresenta la naturale evoluzione dell'allevamento allo stato brado con ricorso al pascolamento giornaliero e ricovero nelle strutture di stabulazione a tempo limitato e parziale. In questo caso si ricorre il più possibile a risorse naturali per l'alimentazione dell'animale e a limitata presenza di strutture dedicate al ricovero del bestiame, ridotto è il ricorso alla manodopera e non esiste un vero centro aziendale di produzione.

Nell'allevamento intensivo strutture ed attrezzature idonee garantiscono all'animale condizioni di microambiente in grado di stimolare e sviluppare al meglio le potenzialità produttive e consentono all'uomo di operare con la maggiore razionalità possibile. In questo caso vi è un'alta concentrazione di animali in spazi confinati, strutture e attrezzature sono molto meccanizzate al fine di automatizzare i processi (alimentazione, mungitura e cura degli animali). I lavoratori sono spesso altamente specializzati (mungitori, veterinari, ecc.) ma ci sono sono anche addetti a mansioni

generiche esposti quindi a tutti i rischi tipici del comparto agricolo. Infatti spesso le attività svolte negli allevamenti sono mescolate a quelle della produzione agricola, necessaria anche all'approvvigionamento di alimenti per il bestiame dell'azienda.

Sebbene esistano situazioni intermedie di organizzazione degli allevamenti tra queste due precedentemente descritte, caratterizzate da non standardizzabili caratterizzazione dei rischi occupazionali, in generale l'allevamento del bestiame implica il lavoro dell'uomo che risulta esposto a numerosi fattori di rischio riassunti in [Tabella I](#).

Le attività di allevamento comportano un contatto stretto del lavoratore con gli animali e con le deiezioni da loro prodotte, ciò comporta una esposizione lavorativa a rischio biologico, in generale, e a rischio zoonosico specifico, a seconda della specie allevata. Queste operazioni, meccanizzate nelle strutture di allevamento intensivo, in molti casi sono svolte manualmente con l'uso di mezzi meccanici. Le deiezioni sono obbligatoriamente stoccate in vasconi o in platee pavimentate e fatte maturare prima dell'utilizzo agronomico o l'invio ai sistemi di produzione di biogas. In tutte le tipologie produttive inoltre è possibile riscontrare un rischio legato alla movimentazione manuale dei carichi e, in particolari mansioni al rischio legato a posture incongrue, azioni di traino e di spinta dell'operatore. Sebbene, infatti, la meccanizzazione determina nelle realtà lavorative di maggiori dimensioni una riduzione dell'intervento diretto dell'operatore nelle operazioni di sollevamento, spinta e traino ciò non avviene nelle aziende di dimensioni più piccole, a carattere familiare, che costituiscono la maggior parte delle realtà presenti in questo settore. Infatti, in particolare lo spostamento delle materie prime (ad esempio i sacchi di mangime) o degli animali, avviene manualmente.

Non è da sottovalutare, in particolare nelle aziende con allevamento intensivo, principalmente nelle attività di pulizia, disinfezione e disinfestazione, l'esposizione a rischio chimico per utilizzo di materie prime (ad esempio biocidi o fitosanitari disinfettanti, impregnanti legno, limacidi, erbicidi, insetticidi, rodenticidi, preparati biologici, ecc.) e farmaci veterinari, l'esposizione a sostanze sensibilizzanti e, in base al tipo e alle tecniche di alimentazione utilizzate nell'azienda, al diverso carico di azoto e fosforo nelle deiezioni. E' inoltre necessario ricordare che in alcune operazioni svolte negli allevamenti sia possibile una esposizione a polveri organiche, in particolare per

emissioni provenienti dalla fase di stabulazione, prodotte essenzialmente dal metabolismo animale, e allergeni (peli, forfora, deiezioni animali).

Attività	Rischi potenziali per la salute dei lavoratori
Pulizia dei ricoveri e gestioni delle deiezioni	<ul style="list-style-type: none"> • Rischio biologico • Rischio chimico • Sostanze sensibilizzanti • Inalazioni di polveri organiche • Posture incongrue
Preparazione e distribuzione degli alimenti	<ul style="list-style-type: none"> • Inalazioni di polveri organiche • Rischio biologico • Sostanze sensibilizzanti • Movimentazione manuale dei carichi • Tossicità cronica per esposizione ad antibiotici (mangimi medicati) • Rumore
Cura degli animali, trattamenti sanitari e gestione delle diverse categorie produttive	<ul style="list-style-type: none"> • Inalazioni di polveri organiche • Rischio biologico • Sostanze sensibilizzanti • Rischio chimico • Movimentazione manuale dei carichi e posture incongrue
Gestione dei capi morti	<ul style="list-style-type: none"> • Rischio biologico • Sostanze sensibilizzanti • Posture incongrue • Inalazioni di polveri organiche • Rumore
Mungitura (allevamenti da latte)	<ul style="list-style-type: none"> • Rischio biologico • Sostanze sensibilizzanti • Posture incongrue • Inalazioni di polveri organiche • Rumore
Tosatura (allevamento di ovi-caprini per produzione di lana)	<ul style="list-style-type: none"> • Inalazioni di polveri organiche • Rischio biologico • Sostanze sensibilizzanti • Movimentazione manuale dei carichi • Posture incongrue • Rumore
Gestione animali morti e invio al macello	<ul style="list-style-type: none"> • Inalazioni di polveri organiche • Rischio biologico • Sostanze sensibilizzanti • Movimentazione manuale dei carichi

Tabella I – Principali rischi per la salute presenti negli allevamenti.

Nelle attività di valutazione del rischio nelle aziende agro-zootecniche è necessario non dimenticare che esiste, in questo settore, una importante commistione vita-lavoro. Infatti il lavoratore spesso risiede nella stessa struttura nella quale lavora e i tempi di svolgimento delle attività agricole sono tali da non permettere una netta demarcazione tra tempo di vita e tempo di lavoro e quindi tra luogo di vita e luogo di lavoro. Alcune attività di contorno al lavoro agricolo e zootecnico sono svolte a domicilio e ciò comporta un rischio aggiuntivo: non è raro che il lavoratore rientri a casa nei momenti di pausa senza cambiare i propri abiti, questo comporta che i rischi presenti nel luogo di lavoro possano raggiungere anche l'abitazione e i familiari. Il fatto che tutta la famiglia risiede e partecipa a supporto all'attività dell'azienda familiare implica che in particolari momenti produttivi anche anziani, donne in gravidanza e bambini partecipino alle attività e, sebbene "categorie fragili", vengano esposti agli stessi rischi per la salute.

2.2 Il rischio biologico

Il comparto agro-zootecnico rappresenta uno dei settori a maggior rischio per infortuni invalidanti e il primo settore per infortuni mortali. A questo va aggiunto che coloro che lavorano nel settore agricolo sono quelli con maggior rischio di contrarre malattie professionali. Le attività vengono svolte a stretto contatto con la natura, con gli animali e con prodotti di origine animale. Questo rapporto può determinare lo sviluppo di malattie causate da microrganismi che vivono, si moltiplicano e svolgono il loro ciclo vitale nel terreno oppure negli animali stessi.

2.2.1 *Normativa di riferimento: Testo unico sulla salute e sicurezza nei luoghi di lavoro*

La prevenzione e sicurezza sul lavoro costituiscono un aspetto estremamente rilevante nella conduzione di aziende del comparto agro-zootecnico. Negli ultimi anni vi è stata un'evoluzione della normativa sulla prevenzione e sicurezza sul lavoro che ha tenuto conto delle diverse situazioni, ambienti di lavoro e attività svolte nel settore.

L'attuale normativa di riferimento si basa sul Decreto Legislativo (D.Lgs.) del 30 aprile 2008, n. 81 (entrato in vigore a partire dal 15 maggio 2008) e successive modifiche ed integrazioni (s.m.i.) meglio noto come "Testo Unico sulla Salute e Sicurezza sul Lavoro"

che riguarda tutti i settori, compresa l'agricoltura e la zootecnia, e comprende i diversi aggiornamenti e circolari che si sono susseguite dalla sua emanazione ad oggi. Il Testo Unico è il risultato di una continua evoluzione delle norme a partire dal primo provvedimento di attuazione delle 8 direttive comunitarie in materia di sicurezza e salute dei lavoratori sul luogo di lavoro emanate tra il 1989 ed il 1990 e cioè il D.Lgs. 19 settembre 1994, n. 626. Il decreto che ha sostituito la normativa italiana che risaliva al periodo 1955-56 ha subito molte modifiche fino all'emanazione del Testo Unico nel 2008, che lo ha abrogato. Anche il D.Lgs. 81 del 2008 è stato oggetto di numerose revisioni ed integrazioni: già a partire dal 2009 con il D.Lgs. del 3 agosto, n. 106 "Disposizioni integrative e correttive al D.Lgs. 81 del 2008 in materia di tutela della salute e della sicurezza nei luoghi di lavoro", fino all'ultima modifica rappresentata dall'articolo 32 "Semplificazione di adempimenti formali in materia di lavoro" della Legge del 9 agosto 2013 "Disposizioni urgenti per il rilancio dell'economia" (Conversione in legge, con modificazioni, del Decreto-Legge del 21 giugno 2013, n. 69).

2.2.2 *Esposizione a rischio biologico: il Titolo X*

La normativa in tema di sicurezza e salute nei luoghi di lavoro dedica un intero titolo, il Titolo X, all'esposizione ad agenti biologici che disciplina e raggruppa le norme che si applicano a tutte le attività lavorative nelle quali vi è o vi può essere rischio di esposizione ad agenti biologici. Per rischio biologico si intende la probabilità che un individuo entri in contatto con materiale biologico potenzialmente contaminato. Il rischio è presente in tutti gli ambienti di vita e di lavoro.

Il D.Lgs. 81 del 2008 e s.m.i. all'articolo 267 definisce agente biologico come *"qualsiasi microrganismo anche geneticamente modificato, coltura cellulare ed endoparassita umano che potrebbe provocare infezioni, allergie o intossicazioni"*, definisce inoltre microrganismo *"qualsiasi entità microbiologica, cellulare o meno, in grado di riprodursi o trasferire materiale genetico"* e coltura cellulare *"il risultato della crescita in vitro di cellule derivate da organismi pluricellulari"*.

Il rischio biologico è strettamente legato agli effetti dell'esposizione ad un agente biologico e si quantifica e si definisce in base alla pericolosità dell'agente biologico a cui si è stati esposti ed alla durata dell'esposizione ovvero in rapporto a: a) l'infettività, cioè la capacità di un microrganismo di penetrare e moltiplicarsi nell'ospite; b) la patogenicità cioè la capacità di produrre malattia a seguito di infezione; c) la

trasmissibilità cioè la capacità di un microrganismo di essere trasmesso da un soggetto infetto ad un soggetto suscettibile e d) la neutralizzabilità cioè la disponibilità di efficaci misure profilattiche, per prevenire la malattia, o terapeutiche, per la sua cura. A seconda della loro pericolosità gli agenti biologici sono classificati in quattro gruppi, come riportato in [Tabella II](#).

CLASSI DI RISCHIO	TIPOLOGIA DI RISCHIO	CARATTERISTICHE
GRUPPO 1	nessuno o basso rischio individuale e collettivo	agente biologico che presenta poche probabilità di causare malattie in soggetti umani.
GRUPPO 2	moderato rischio individuale, limitato rischio collettivo	agente biologico che può causare malattie in soggetti umani e costituire un rischio per i lavoratori; è poco probabile che si propaghi nella comunità; sono di norma disponibili efficaci misure profilattiche o terapeutiche.
GRUPPO 3	elevato rischio individuale, basso rischio collettivo	un agente che può causare malattie gravi in soggetti umani e costituisce un serio rischio per i lavoratori; l'agente biologico può propagarsi nella comunità, ma di norma sono disponibili efficaci misure profilattiche o terapeutiche.
GRUPPO 4	elevato rischio individuale e collettivo	un agente biologico che può provocare malattie gravi in soggetti umani e costituisce un serio rischio per i lavoratori e può presentare un elevato rischio di propagazione nella comunità; non sono disponibili, di norma, efficaci misure profilattiche o terapeutiche.

Tabella II – Classificazione degli agenti biologici secondo il TU sulla salute e sicurezza nei luoghi di lavoro.

Alcuni agenti classificati nel gruppo 3 nell'allegato XLVI del D.Lgs. 81 del 2008 e s.m.i. possono comportare un rischio di infezione limitato perché normalmente non sono veicolati dall'aria (ad esempio virus HIV, virus dell'epatite B e virus dell'epatite C).

Un intero allegato del D.Lgs. 81 del 2008 e s.m.i. riporta l'elenco degli agenti biologici (Allegato XLVI), divisi per classi e per tipologia di microrganismo (batteri, virus e

parassiti e funghi). A titolo esemplificativo appartengono: a) al gruppo 1 microrganismi come *Escherichia coli*; b) al gruppo 2 *Clostridium tetani*, *Klebsiella pneumoniae*, virus epatite A, *Vibrio cholerae*, *Streptobacillus moniliformis* (Febbre da morso del ratto); c) al gruppo 3 *Mycobacterium tuberculosis*, Febbre gialla; d) al gruppo 4 virus Ebola, virus Sabia (Tabella III).

MICROORGANISMO	CLASSE	
BATTERI	<i>Clostridium botulinum</i>	2
	<i>Enterobacter spp.</i>	2
	<i>Coxiella burnetii</i>	3
VIRUS	Virus dell'epatite C	3
	Virus della febbre gialla	3
	Herpes simplex virus tipi 1 e 2	2
PARASSITI	<i>Ascaris lumbricoides</i>	2
	<i>Diphyllobothrium latum</i>	2
	<i>Echinococcus granulosus</i>	3
FUNGHI	<i>Aspergillus fumigatus</i>	2
	<i>Blastomyces dermatitidis</i> (<i>Ajellomyces dermatitidis</i>)	3
	<i>Candida albicans</i>	2

Tabella III – Alcuni esempi di classificazione degli agenti biologici riportati nel TU.

In base alla normativa vigente l'obbligo principale del datore di lavoro è la valutazione del rischio, come sancito dall'articolo 271, che deve tener conto di tutte le informazioni disponibili relative alle caratteristiche dell'agente biologico e delle modalità lavorative: "a) della classificazione degli agenti biologici che presentano o possono presentare un pericolo per la salute umana" come riportato nell'Allegato XLVI "o, in assenza, di quella effettuata dal datore di lavoro stesso sulla base delle conoscenze disponibili e seguendo i criteri di cui all'articolo 268, commi 1 e 2 ; b) dell'informazione sulle malattie che possono essere contratte; c) dei potenziali effetti allergici e tossici; d) della conoscenza di una patologia della quale è affetto un lavoratore, che è da porre in correlazione diretta all'attività lavorativa svolta; e) delle

eventuali ulteriori situazioni rese note dall'autorità sanitaria competente che possono influire sul rischio; f) del sinergismo dei diversi gruppi di agenti biologici utilizzati.

Il datore di lavoro è tenuto a ripetere la valutazione, come previsto dal comma 1 dell'articolo 17, in occasione di modifiche dell'attività lavorativa significative ai fini della sicurezza e della salute sul lavoro. In ogni caso la valutazione deve essere ripetuta ogni tre anni.

A seguito della valutazione dei rischi, in tutte le attività per le quali, in base all'articolo 271 del D.Lgs. 81 del 2008 e s.m.i., si evidenziano rischi per la salute dei lavoratori, il datore di lavoro, secondo l'articolo 272 dello stesso Decreto, mette in atto misure tecniche, organizzative e procedurali, per evitare ogni esposizione degli stessi ad agenti biologici.

In particolare, il datore di lavoro: a) evita l'utilizzazione di agenti biologici nocivi, se il tipo di attività lavorativa lo consente; b) limita al minimo i lavoratori esposti, o potenzialmente esposti, al rischio di agenti biologici; c) progetta adeguatamente i processi lavorativi, anche attraverso l'uso di dispositivi di sicurezza atti a proteggere dall'esposizione accidentale ad agenti biologici; d) adotta misure collettive di protezione ovvero misure di protezione individuali qualora non sia possibile evitare altrimenti l'esposizione; e) adotta misure igieniche per prevenire e ridurre al minimo la propagazione accidentale di un agente biologico fuori dal luogo di lavoro; f) usa il segnale di rischio biologico, rappresentato nell'Allegato XLV, e altri segnali di avvertimento appropriati; g) elabora idonee procedure per prelevare, manipolare e trattare campioni di origine umana ed animale; h) definisce procedure di emergenza per affrontare incidenti; i) verifica la presenza di agenti biologici sul luogo di lavoro al di fuori del contenimento fisico primario, se necessario o tecnicamente realizzabile; l) predispone i mezzi necessari per la raccolta, l'immagazzinamento e lo smaltimento dei rifiuti in condizioni di sicurezza, mediante l'impiego di contenitori adeguati ed identificabili eventualmente dopo idoneo trattamento dei rifiuti stessi; m) concorda procedure per la manipolazione ed il trasporto in condizioni di sicurezza di agenti biologici all'interno e all'esterno del luogo di lavoro.

Inoltre per tutte le attività nelle quali la valutazione evidenzia rischi per la salute dei lavoratori, il datore di lavoro, secondo l'articolo 273 del D.Lgs. 81 del 2008 e s.m.i., assicura che: *“a) i lavoratori dispongano dei servizi sanitari adeguati provvisti di docce con acqua calda e fredda, nonché, se necessario, di lavaggi oculari e antisettici per la*

pelle; (...) b) (...) abbiano in dotazione indumenti protettivi od altri indumenti idonei, da riporre in posti separati dagli abiti civili; c) i dispositivi di protezione individuale ove non siano mono uso, siano controllati, disinfettati e puliti dopo ogni utilizzazione, provvedendo altresì a far riparare o sostituire quelli difettosi prima dell'utilizzazione successiva; d) gli indumenti di lavoro e protettivi che possono essere contaminati da agenti biologici vengano tolti quando il lavoratore lascia la zona di lavoro, conservati separatamente dagli altri indumenti, disinfettati, puliti e, se necessario, distrutti.”

Nelle attività per le quali la valutazione di cui all'articolo 271 evidenzia rischi per la salute dei lavoratori, il datore di lavoro, secondo l'articolo 278, fornisce ai lavoratori, sulla base delle conoscenze disponibili, informazioni ed istruzioni, in particolare per quanto riguarda: *a) i rischi per la salute dovuti agli agenti biologici utilizzati; b) le precauzioni da prendere per evitare l'esposizione; c) le misure igieniche da osservare; d) la funzione degli indumenti di lavoro e protettivi e dei dispositivi di protezione individuale ed il loro corretto impiego; (...)* il modo di prevenire il verificarsi di infortuni e le misure da adottare per ridurre al minimo le conseguenze. Inoltre il datore di lavoro assicura ai lavoratori una formazione adeguata. Come previsto dall'articolo 279, qualora l'esito della valutazione del rischio ne rilevi la necessità i lavoratori esposti ad agenti biologici sono sottoposti alla sorveglianza sanitaria di cui all'articolo 41 del TU.

2.2.1 L'applicazione della normativa sulla tutela della sicurezza e salute nei luoghi di lavoro nel settore agro-zootecnico

Il D.Lgs. 81 del 2008 e s.m.i. stabilisce che la sorveglianza sanitaria sui luoghi di lavoro, se prevista, in base alla valutazione dei rischi, sia obbligatoria per i lavoratori dipendenti, o assimilati.

L'applicazione della normativa trova alcune differenze tra le imprese con lavoro subordinato, dove cioè si configura un contratto di lavoro (anche se questo appartiene ai nuovi contratti che esistono nel settore agricolo, come ad esempio i “voucher”) e quelle che utilizzano solo il lavoro del titolare e/o dei familiari. E' opportuno rammentare e precisare che, secondo l'articolo 230-bis del codice civile, per impresa familiare si intende una impresa nella quale prestano attività lavorativa in maniera abituale il coniuge, i parenti entro il terzo grado e gli affini entro il secondo grado del titolare che vengono considerati collaboratori familiari. Il collaboratore familiare dell'imprenditore, proprio in virtù della sua particolare posizione rivestita, non assume

la veste di lavoratore subordinato ed è da escludere, altresì, che la sua attività possa essere considerata come lavoro dipendente e che lo stesso possa essere equiparato ad un socio di una società. Il rapporto che viene a costituirsi in una impresa familiare fra il titolare ed i suoi componenti, infatti, è un rapporto del tutto *“sui generis”* ed in esso non si riscontrano appunto le caratteristiche di un rapporto subordinato. Manca infatti l'obbligo del rispetto di un orario di lavoro ed il diritto ad un compenso, che nella circostanza è rappresentato, più che da una vera e propria retribuzione, dalla sua partecipazione agli utili di impresa secondo la qualità e la quantità dell'attività prestata.

L'impresa familiare è quindi una di quelle organizzazioni di lavoro per le quali il legislatore ha inteso concedere degli *“sconti”* sugli obblighi in materia di salute e sicurezza sul lavoro posti in genere a carico di tutte le aziende. Infatti, il Testo Unico, per coloro che lavorano in azienda (titolare e familiari) prevede solo l'applicazione delle disposizioni dell'articolo 21 e cioè l'adozione dei dispositivi di sicurezza personale. Restano valide anche per l'azienda familiare e/o diretto coltivatrice le disposizioni impartite per il rispetto delle caratteristiche per i luoghi di lavoro, che per l'azienda agricola riguardano sia fabbricati (stalle, fienili, fosse per il liquame, magazzini, etc.) sia le macchine ed attrezzature (trattrici, macchine semoventi, attrezzi, etc.). La stessa è esplicitamente richiamata nell'articolo 3 del Testo Unico riportante il campo di applicazione dello stesso decreto, il quale con il comma 12, così come modificato dal Decreto correttivo del 3 agosto 2009 n. 106, ha stabilito che *“nei confronti dei componenti dell'impresa familiare di cui all'art. 230-bis del codice civile, dei coltivatori diretti del fondo, degli artigiani e dei piccoli commercianti e dei soci delle società semplici operanti nel settore agricolo si applicano le disposizioni di cui all'articolo 21”*. Secondo l'articolo 21 del D.Lgs. 81 del 2008 e s.m.i., che detta le disposizioni relative ai componenti dell'impresa familiare di cui all'articolo 230-bis del Codice civile e ai lavoratori autonomi, *“i coltivatori diretti del fondo, i soci delle società semplici operanti nel settore agricolo, gli artigiani e i piccoli commercianti sono tenuti ad utilizzare attrezzature di lavoro in conformità alle disposizioni di cui al Titolo III; munirsi di dispositivi di protezione individuale ed utilizzarli conformemente alle disposizioni di cui al Titolo III.”*

Inoltre i soggetti sopracitati, relativamente ai rischi propri delle attività svolte hanno facoltà di beneficiare della sorveglianza sanitaria (articolo 41 del TU), e di partecipare a

corsi di formazione specifici in materia di salute e sicurezza sul lavoro, incentrati sui rischi propri delle attività svolte (articolo 37 del TU), ma con oneri a proprio carico, fermi restando gli obblighi previsti da norme speciali.

Purtroppo, fatta eccezione di alcuni rari comportamenti virtuosi, la “facoltà” è stata interpretata come assenza di obbligo o addirittura di assenza di necessità di sorveglianza sanitaria. Da ciò consegue che le aziende a conduzione familiare, quelle nelle quali spesso mancano profili professionali specifici adeguati alla gestione delle diverse tematiche sia sulla salute e sicurezza nei luoghi di lavoro che sulla tutela dell’ambiente, non siano assolutamente inseriti in programmi specifici di tutela sebbene esposti agli stessi rischi lavorativi degli operatori agro-zootecnici dipendenti.

2.4 Le zoonosi professionali

Il rischio biologico in ambito occupazionale viene normalmente distinto in due diverse tipologie: il rischio biologico generico (presente in tutti gli ambienti di lavoro) e il rischio biologico specifico (proprio della mansione svolta). Quest’ultimo, a sua volta, può essere distinto in: a) rischio biologico deliberato che si manifesta quando una determinata attività prevede l’uso deliberato, intenzionale, di agenti biologici (esempio: si usa un microrganismo nella produzione di generi alimentari; in tal caso l’agente biologico è ben noto e viene intenzionalmente introdotto nel ciclo lavorativo per esservi trattato, manipolato, trasformato o per sfruttarne le proprietà biologiche, quindi può essere monitorato più facilmente e le misure di prevenzione possono essere commisurate al rischio di cui quel microrganismo è portatore) e b) rischio biologico potenziale che deriva da una esposizione non intenzionale, potenziale ad agenti biologici.

Il lavoro nel settore agro-zootecnico, pur non comportando un uso deliberato di agenti biologici, può implicare un rischio non eliminabile a tali agenti, poiché non è possibile escludere il contatto quotidiano con animali, deiezioni e liquidi biologici potenzialmente infetti. Tali agenti possono essere divisi, in base all’interazione con l’organismo umano, in due grandi gruppi:

1. agenti aerodispersi che possono causare patologie respiratorie non infettive, congiuntivali, cutanee di natura allergica o immunomediata;

2. agenti che per via aerea, alimentare o per contatto diretto possono causare antropozoonosi (malattie dell'uomo trasmesse da animali).

In generale le zoonosi comprendono oltre 200 patologie conosciute nel mondo, diverse per eziologia, specificità dell'ospite, modalità di trasmissione, diffusione, quadro clinico-anamnestico associato e significato socio-economico. Di queste circa 40 rappresentano un rischio occupazionale riconosciuto per i lavoratori del comparto agro-zootecnico. Oltre il 60% dei patogeni umani conosciuti e classificati sono agenti eziologici di zoonosi e il 75% delle patologie emergenti sono zoonosi (Donham e Thelin, 2006).

Ridurre i rischi per la salute pubblica da zoonosi e da altre minacce alla salute dovute all'interfaccia umano-animale-ecosistemi (come la resistenza antimicrobica) non è semplice. La gestione e la riduzione di questi rischi devono considerare la complessità delle interazioni tra gli esseri umani, gli animali e i vari ambienti in cui vivono, richiedendo la comunicazione e la collaborazione tra i settori responsabili della salute umana, della salute degli animali e dell'ambiente.

2.4.1 Definizione

Da tempo immemorabile è noto che esistono malattie che possono essere trasmesse dagli animali all'uomo: queste malattie vengono dette "zoonosi". Le zoonosi sono infezioni/infestazioni e malattie che possono essere trasmesse direttamente o indirettamente tra gli animali e l'uomo (Rabozzi et al., 2012).

Le prime segnalazioni di infezioni trasmesse da animali all'uomo riguardano malattie occupazionali: Tito Livio narra che una forma di rogna fu trasmessa dal bestiame ai lavoratori agricoli (anno di Roma 328). La prima malattia individuata come trasmissibile dagli animali all'uomo è la rabbia: la trasmissibilità da cane a cane è stata segnalata circa novecento anni fa, quella da cane a uomo circa cinque secoli più tardi. Durante il Medioevo state segnalate malattie trasmesse dagli animali all'uomo, soprattutto tramite alimenti (Mantovani, 1992).

Il primo a utilizzare il termine zoonosi, "infezioni da veleni animali contagiosi" è il medico tedesco Rudolf Virchow, nel 1855 (Schultz M., 2008).

L'Organizzazione mondiale della sanità (WHO) oggi utilizza il semplice termine "zoonosi", evitando forme complesse ed esplicative come "antropozoonosi" e "zooantroponosi". Nel 1951 le definiva come "malattie animali trasmissibili all'uomo",

mentre nel 1959 l'Organizzazione Mondiale della Sanità ha adottato la seguente definizione: "malattie e infezioni trasmesse naturalmente da (altri) animali vertebrati all'uomo". Da notare come la parola "altri" sia messa tra parentesi per rispetto alle culture non evoluzioniste. Si è inoltre discusso se inserire nella definizione l'espressione "e viceversa", per indicare l'eventualità che l'uomo possa a sua volta trasmettere l'infezione acquisita dall'animale (WHO, 1959; Westrell et al., 2009).

Quando però si è constatato che l'uomo è un ospite intermedio e/o accidentale, per quasi tutte le zoonosi, e quindi incapace di trasmettere a sua volta l'infezione, si è deciso di non inserire la frase nella definizione.

La mancanza di chiarezza causata dall'uso della terminologia "naturalmente trasmesse" e la mancanza di descrizione dello stato immune dell'ospite, ha causato confusione nella definizione delle zoonosi, ciò ha stimolato lo sviluppo di una serie di classificazioni proposte: ad esempio in base alla direzione della trasmissione ovvero in base ai meccanismi e modalità di trasmissione.

La classificazione in base alle modalità e ai meccanismi di trasmissione (Schwabe, 1960) divide le zoonosi in:

- zoonosi diretta - trasmissione da un vertebrato all'altro senza che l'agente patogeno subisca modificazioni prima della trasmissione (es. rabbia, brucellosi);
- ciclo-zoonosi - l'agente eziologico completa il ciclo attraverso più ospiti vertebrati (es. echinococcosi);
- meta-zoonosi - la trasmissione avviene attraverso vettori invertebrati (es. borreliosi di Lyme, babesiosi)
- sapro-zoonosi - una parte del ciclo di trasmissione si compie nell'ambiente esterno (es. criptococcosi).

Tale classificazione introduce tuttavia un eccesso di specificazione non utile alla definizione epidemiologica di zoonosi. Nel mondo moderno queste malattie, a causa dell'intensificarsi degli scambi commerciali di animali e prodotti di origine animale tra i vari paesi, stanno acquistando un'importanza crescente. Inoltre il pericolo della loro diffusione è ulteriormente aggravato dall'aumento degli animali, domestici e selvatici, che sempre più numerosi vivono in ambiente urbano.

L'interesse per questo tipo di malattie ha portato ad un ampliamento delle conoscenze ed ha spinto ad approfondire anche alcuni aspetti socio-economici. In quest'ottica, si è proposto recentemente un allargamento della definizione di zoonosi "danno alla salute

e/o qualità della vita umana causato da relazione con (altri) animali vertebrati, o invertebrati commestibili o tossici". Questa definizione, in aggiunta alle classiche malattie trasmissibili, inserisce nel concetto di zoonosi anche: le malattie allergiche da contatto con animali o da ingestione di alimenti di origine animale; le malattie da sostanze chimiche (es. antibiotici) presenti negli alimenti d'origine animale; le malattie derivanti da morsi di serpente o da punture di artropodi (Mantovani A, 2000). Vista l'importanza di queste patologie è, pertanto, evidente la necessità di attivare dei percorsi di collaborazione, interdisciplinari e integrati, attraverso i quali avere una tempestiva rilevazione dei potenziali rischi per la salute umana e, conseguentemente, dei limiti alla diffusione di queste patologie e identificazione di strategie di prevenzione efficaci.

2.4.2 Sistema di sorveglianza delle zoonosi

Al fine di organizzare e garantire un'adeguata sorveglianza delle zoonosi è stato sviluppato un sistema di sorveglianza di queste patologie, come previsto dalla Direttiva promulgata dal Parlamento Europeo n. 99 del 2003, che regola il controllo delle zoonosi e la resistenza agli antimicrobici e l'esecuzione di indagini epidemiologiche a seguito di focolai di tossinfezione alimentare.

Le finalità del sistema di sorveglianza sono quelle di: a) salvaguardare la salute pubblica; b) evitare l'ingresso delle malattie negli allevamenti; c) individuare tempestivamente i focolai zoonosici al fine di evitare la diffusione in altri allevamenti; d) ridurre il livello di prevalenza della malattia nell'uomo e negli animali.

L'Unione Europea, in aggiunta alla Direttiva 99/2003/CE, ha avviato un programma di monitoraggio per studiare e verificare l'andamento degli episodi zoonotici al fine di individuare, per la tutela della salute umana ed animale, le fonti di infezione e attuare misure di controllo e di prevenzione adeguate.

Al fine di definire programmi di eradicazione degli eventi zoonotici gli Stati Membri raccolgono e analizzano i dati relativi a: a) eventi zoonotici; b) identificazione degli agenti patogeni responsabili; c) resistenza antimicrobica; d) epidemie di origine alimentare; e) piani di monitoraggio e controllo.

Il ruolo di coordinamento e programmazione a livello locale degli interventi sul territorio viene svolto dalle Regioni che individuano anche le modalità di raccolta dei dati. Le Regioni inviano i dati al Ministero della Salute che fornisce le informazioni

nazionali ai quattro organismi europei di riferimento che si occupano di analizzare le fonti e le tendenze temporali delle zoonosi: il Centro europeo per la prevenzione ed il controllo delle malattie (ECDC), L'Autorità europea per la sicurezza alimentare (EFSA), l'Agenzia europea per i medicinali (EMA) ed il comitato scientifico della Commissione Europea sui rischi sanitari emergenti e recentemente identificati (SCENIHR).

In Italia l'attuazione della Direttiva 2003/99/CE sulle misure di sorveglianza delle zoonosi e degli agenti zoonosici è rappresentata DLgs 191 del 4 aprile del 2006 che individua nel Ministero della Salute l'autorità competente in materia e le ASL i soggetti operativi a livello locale. In particolare, a livello locale, i Dipartimenti di prevenzione veterinaria delle ASL effettuano, nei confronti di queste patologie, il monitoraggio sanitario presso gli allevamenti e i mattatoi e mettono in atto provvedimenti per la prevenzione di situazioni ritenute a rischio, anche al fine di limitare il più possibile il rischio di contagio (ad esempio tramite l'abbattimento di animali infetti, individuazione e distruzione dei prodotti derivati).

Le malattie zoonotiche, oltre al sistema di sorveglianza, sono soggette anche a notifica obbligatoria secondo il Decreto ministeriale del 15 dicembre del 1990. Questo decreto sancisce l'obbligo per il medico di notifica al Servizio di Igiene della ASL di competenza di una serie di patologie infettive, con modalità differenti a seconda del patogeno coinvolto. Nella [Tabella IV](#) sono raggruppate alcune patologie soggette ad obbligo di notifica, classificate in base al D.M. del 15 dicembre 1990, identificate per classe e modalità di notifica.

Quindi in Europa, la sorveglianza delle zoonosi ha due percorsi distinti, uno legato al sistema di notifica ufficiale delle malattie infettive, attivo in ogni stato membro, che va ad alimentare le informazioni dell'ECDC, l'altro, che fa riferimento al Direttiva 2003/99/CE, che riguarda prevalentemente le zoonosi a trasmissione alimentare. Questi due flussi vengono sintetizzati nel report annuale delle zoonosi, pubblicato congiuntamente da EFSA e da ECDC. Il livello di attenzione e la qualità della sorveglianza è differente sia per le diverse zoonosi sia tra i vari Stati Membri, per cui non è semplice avere quadri generali e letture comparative dai dati pubblicati nel report.

In Italia la situazione legata alla sorveglianza delle malattie infettive è complessa, e i dati disponibili dal sistema ufficiale di notifica sono frammentari. Questa frammentarietà rende molto difficile leggere i dati sia dal punto di vista geografico sia

dal punto di vista temporale, non avendo a disposizione dei “metadati” che li traducano e li rendano comprensibili e paragonabili tra regioni e per anni. Risulta quindi molto complicato sia avere un quadro attuale sia avere un quadro storico delle zoonosi a livello nazionale.

Classi	Tempi di segnalazione del medico alla ASL	Malattie
Prima - Si richiede segnalazione immediata o perché soggette al Regolamento sanitario internazionale o perché rivestono particolare interesse	12 ore	Colera, botulismo, febbre gialla, febbre ricorrente epidemica, influenza con isolamento virale, febbri emorragiche virali (febbre di Lassa, Marburg, Ebola), rabbia, peste, tetano, poliomielite, trichinosi, tifo esantematico, difterite
Seconda - Malattie rilevanti perché ad elevata frequenza e/o passibili di interventi di controllo	48 ore	Blenorragia, brucellosi, diarree infettive non da salmonella, epatite virale A, B, NANB, epatite virale non specificata, febbre tifoide, legionellosi, leishmaniosi cutanea, leishmaniosi viscerale, leptospirosi, listeriosi, meningite ed encefalite acuta virale, meningite meningococcica, morbillo, parotite, pertosse, rickettsiosi diversa da tifo esantematico, rosolia, salmonellosi non tifoidee, scarlattina, sifilide, tularemia, varicella
Terza - Sono richieste particolari documentazioni	48 ore	AIDS, lebbra, malaria, micobatteriosi non tubercolare, tubercolosi
Quarta - Alla segnalazione del singolo caso da parte del medico deve seguire la segnalazione dell'unità sanitaria locale solo quando si verificano focolai epidemici	24 ore	Dermatofitosi (tigna), infezioni, tossinfezioni ed infestazioni di origine alimentare, pediculosi, scabbia
Quinta - Malattie notificate all'unità sanitaria locale e non comprese nelle classi precedenti, zoonosi indicate dal regolamento di polizia veterinaria di cui al decreto del Presidente della Repubblica 8 febbraio 1954, n. 320, e non precedentemente menzionato	Le notifiche di classe V vengono comunicate annualmente, in un riepilogo, al Ministero. Solo quando assumano le caratteristiche di focolaio epidemico, devono essere segnalate con le modalità previste per la Classe IV.	

Tabella IV - Classificazione in base al D.M. del 15 dicembre 1990: identificazione per classe e modalità di notifica.

2.4.3 *Le zoonosi professionali come malattia lavoro-correlata*

Il fatto che le persone che lavorano o che sono in contatto con animali o loro prodotti possano contrarre infezioni è conosciuto da secoli, ancora prima dell'introduzione del concetto di zoonosi. Infatti già nel secolo XIX, il carbonchio e la morva, già descritte in passato, vennero riconosciute come malattie professionali: la prima (carbonchio), soprattutto legato al contatto diretto con animali ammalati, carcasse, pelle, crini e lana, venne riconosciuta come malattia occupazionale per i lavoratori delle pelli, dei peli, dei crini e della lana, conciatori, fabbricanti di manufatti derivati, tosatori, cardatori, tappezzieri, commercianti di prodotti di origine animale, macellai e sezionatori di carni, scuoiatori, straccivendoli, cocchieri, lavoratori della carta, pastori, veterinari; la seconda (morva) soprattutto legata al lavoro con equini infetti, vivi o morti, venne riconosciuta per macellai, carrettieri, allevatori, maniscalchi, palafrenieri, stallieri, soldati di cavalleria o a contatto con equini, veterinari.

In seguito, l'interesse fu esteso dalle zoonosi, identificate nel tempo in numero sempre crescente, a tutte le malattie correlate al lavoro con animali (domestici, selvatici, sinantropici, di laboratorio), ai loro ambienti di vita e di allevamento, ed alla trasformazione dei loro prodotti.

Le tappe fondamentali per il riconoscimento delle zoonosi quali patologie professionali sono tre. La prima è rappresentata dalla riunione congiunta *World Health Organization* (WHO) e *Food and agriculture organization of the united nations* (FAO) di esperti in Sanità pubblica veterinaria (SPV) avvenuta nel 1975 e nella quale: a) per la prima volta le zoonosi vengono riconosciute come rischi professionali; si ribadisce la necessità di conoscenze specifiche necessarie per prevenzione e controllo; le zoonosi vengono classificate da un punto di vista socio-economico (zoonosi con gravi effetti sulle produzioni animali; zoonosi con gravi conseguenze per l'uomo e per gli animali dal punto di vista economico; zoonosi con gravi conseguenze per l'uomo, ma di scarsa gravità per gli animali) (FAO, 1975).

La seconda tappa è costituita dalla riunione della WHO sulle zoonosi batteriche e virali (1982) nella quale si giunge a una classificazione delle attività lavorative e delle popolazioni a elevato rischio di zoonosi e si definisce anche una classificazione delle zoonosi per attività lavorativa del settore agro-zootecnico (WHO, 1982).

L'ultima tappa è rappresentata dalla riunione congiunta OMS, FAO e World Organisation for Animal Health (OIE) di esperti sul "futuro" della SPV nel XXI secolo (1999) nella quale viene evidenziato che il controllo delle malattie occupazionali associate al lavoro con animali è considerato una parte emergente e importante delle attività e competenze della SPV (WHO, 1999; Tomao et al., 2009).

La legislazione italiana riguardante le malattie occupazionali o professionali, si è evoluta attraverso gli anni. Nel 1956, il Decreto del presidente della repubblica (D.P.R.) n. 303 *"Norme generali per l'igiene del lavoro"* stabiliva regole basate sul concetto non di rischio valutato ma di rischio tabellato, nel quale venivano inserite anche alcune zoonosi.

Nel 1965 segue il *"Testo unico delle disposizioni per l'assicurazione obbligatoria contro gli infortuni sul lavoro e le malattie professionali"*, importante norma sociale a tutela dei lavoratori. Qui si esplicita la distinzione tra malattie occupazionali ed infortuni: le zoonosi furono considerate "infortuni" creando di fatto gravi difficoltà al risarcimento di molte zoonosi occupazionali.

Negli ultimi 50 anni si sono susseguite numerose riforme legislative che hanno condotto a un'evoluzione dell'attività sanitaria in riferimento alla tutela della salute del lavoratore ed in particolare in riferimento alle malattie professionali. La malattia professionale, definita anche "tecnopatia", è una patologia che il lavoratore contrae in occasione dello svolgimento dell'attività lavorativa e che è dovuta all'esposizione nel tempo a dei fattori presenti nell'ambiente e nei luoghi di lavoro in cui opera. Infatti nel 1973 furono pubblicate, con l'emanazione del Decreto ministeriale (D.M.) del Ministero per il lavoro e la previdenza sociale, di concerto con il Ministero per la sanità, le "tabelle" delle malattie professionali passibili di risarcimento assicurativo.

Dopo ben 31 anni, con Decreto del Ministero del lavoro e delle politiche sociali del 27 aprile 2004 è stato aggiornato l'elenco delle malattie di origine lavorativa per le quali è obbligatoria la denuncia alla ASL, all'INAIL e all'Ispettorato del lavoro ai sensi e per gli effetti dell'art. 139 del D.P.R. n. 1124 del 30 giugno 1965. Il nuovo elenco è stato predisposto dalla Commissione scientifica, istituita ai sensi dell'articolo 10 del D.Lgs. 38 del 2000, cui compete anche l'elaborazione e la revisione periodica delle tabelle delle malattie professionali. Nell'elenco, che individua suddivise in tre liste ([Tabella V](#)) le malattie di probabile e di possibile origine lavorativa, sono state inserite molte zoonosi occupazionali del settore zootecnico e parazootecnico.

Attualmente, l'obbligo di denuncia da parte dei medici è quindi molto ampio, comprendendo anche malattie la cui origine lavorativa è di limitata probabilità o mera possibilità, e questo proprio allo scopo di far emergere l'origine professionale di malattie professionali non tabellate e, nell'ottica di una sempre maggiore tutela della salute e sicurezza dei lavoratori.

LISTA	MALATTIE COMPRESSE NELLA LISTA
Lista I	Malattie la cui origine lavorativa è di elevata probabilità. Tale lista contiene quelle malattie che costituiranno la base per la revisione delle tabelle ex artt. 3 e 211 del D.Lgs. 38 del 2000
Lista II	Malattie la cui origine professionale è di limitata probabilità. Si tratta di malattie per le quali non sussistono ancora conoscenze sufficientemente approfondite perché siano incluse nella Lista I
Lista III -	Malattie la cui origine professionale è possibile. Si tratta di malattie per le quali non è definibile il grado di probabilità per le sporadiche e ancora non precisabili evidenze scientifiche.

Tabella V - Suddivisione in liste delle malattie di probabile e di possibile origine lavorativa.

2.4.4 Le principali zoonosi professionali del settore agro-zootecnico

Molte malattie infettive emergenti o riemergenti sono zoonosi (causate da patogeni provenienti da animali o da prodotti di origine animale) in grado di oltrepassare la barriera di specie. Pertanto, gli ambiti lavorativi maggiormente interessati sono quelli agro-zootecnici, con un particolare coinvolgimento dei lavoratori a contatto con animali infetti vivi o morti, aerosol, polveri o superfici contaminate da loro secrezioni. Si stima che ogni anno circa 320.000 lavoratori nel mondo perdano la vita a causa di malattie trasmissibili provocate da agenti biologici virali o batterici o dovute al contatto con insetti o animali (Benedetti et al., 2017).

L'Italia, essendo un Paese forte importatore di animali e di materie prime posizionato al centro del Mediterraneo, è in prima linea rispetto a tali complessi fenomeni e da tempo si è dotata di un sistema di prevenzione, gestione ed intervento in caso si verificano emergenze da zoonosi (Seimenis et al., 2006).

Le possibili zoonosi presenti in agricoltura sono assai numerose e spesso caratteristiche di determinate produzioni. Inoltre i diversi agenti biologici rappresentano, a causa della loro modalità di trasmissione orofecale o ematica possono rappresentare un importante rischio per il lavoratore, se le condizioni

igienico-ambientali sono scadenti. Nelle tabelle seguenti (Tabella VI-VIII) vengono mostrate le principali zoonosi occupazionali trasmesse da bovini, ovi-caprini e suini (SIMLII, 2013).

MICROORGANISMO	MALATTIA CORRELATA
<i>Trichophyton verrucosum</i>	Dermatomicosi
<i>Bacillus anthracis</i>	Pustola Maligna
<i>Clostridium tetani</i>	Tetano
<i>Coxiella burnetii</i>	Febbre Q
<i>Leptospira interrogans</i>	Leptosirosi
<i>Mycobacterium tuberculosis, M. bovis, M. avium</i>	Tubercolosi
<i>Rhabdovirus</i>	Rabbia
<i>Aphthovirus</i>	Afta epizootica
<i>Pseudocowpox (Parapox Virus)</i>	Nodulo del mungitore
Contagio possibile al lavoratore solo in condizioni igienico ambientali assai scadenti	
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Criptosporidiosi
Prioni	Encefalopatia spongiforme bovina
<i>Listeria monocytogenes</i>	Listeriosi
<i>Taenia saginata</i>	Tenia di manzo

Tabella VI – Zoonosi occupazionali trasmesse dai bovini.

MICROORGANISMO	MALATTIA CORRELATA
<i>Poxvirus</i>	Ectima contagiosa (ORF)
<i>Francisella tularensis</i>	Tularemia
<i>Brucella melitensis</i>	Brucellosi
<i>Chlamydia psittaci</i>	Psittacosi
<i>Flavivirus</i>	Encefalite da zecche
<i>Nairovirus</i>	Febbre emorragica Congo-Crimea
Contagio possibile al lavoratore solo in condizioni igienico ambientali assai scadenti	
<i>Echinococcus granulosus</i>	Echinococcosi cistica
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Criptosporidiosi

Tabella VII – Zoonosi occupazionali trasmesse dagli ovi-caprini.

Per effettuare la valutazione del rischio in questo settore non basta conoscere gli agenti biologici che possono causare malattie infettive trasmesse dagli animali all'uomo (zoonosi), ma è fondamentale sapere quali sono le zoonosi che comportano rischi concreti per i lavoratori, i danni che possono provocare, le modalità di trasmissione, in quali fasi del ciclo produttivo si verifica il rischio di esposizione e le

specifiche misure preventive applicabili. Mentre le conoscenze sulle principali zoonosi sono facilmente reperibili, l'acquisizione degli altri elementi, che sono la base per realizzare la valutazione del rischio da parte del datore di lavoro, presenta alcune problematiche dovute principalmente alle carenze dei dati sulle zoonosi professionali, alla parzialità dei dati sulla diffusione di molte zoonosi negli animali, alle poche indagini epidemiologiche svolte sui lavoratori del settore e alla difficoltà di diagnosi eziologica di alcune infezioni zoonosiche.

MICROORGANISMO	MALATTIA CORRELATA
<i>Leptospira Interrogans</i>	Leptosirosi
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	Mal rossino
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Tubercolosi
<i>Streptococcus suis</i>	Streptococcosi
<i>Brucella suis</i>	
H1N1 tipo A (Influenza virus A)	Influenza suina
Nipah virus (Paramyxoviridae)	Malattia di Nipah
Virus Epatite E (Calicivirus)	Epatite E
<i>Ascaris suum</i> (Nematodiasis)	Ascariidiosi
<i>Salmonella typhimurium</i>	Salmonellosi
<i>Escherichia coli</i>	Colibacillosi
<i>Clostridium tetani</i>	Tetano
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	Melioidosi
<i>Staphylococcus aureus</i> (possibile meticillino-resistenti)	Infezione stafilococcica a partenza respiratoria
Contagio possibile al lavoratore solo in condizioni igienico ambientali assai scadenti	
<i>Taenia solium</i>	Cisticercosi
<i>Trichinella spiralis</i>	Trichinosi
<i>Campylobacter jejuni</i>	Gastroenterite
<i>Listeria monocytogenes</i>	Listeriosi
<i>Balantidium coli</i>	Balantidiasi
<i>Sarcocystis suihominis</i>	Sarcocistosi
<i>Toxoplasma gondii</i>	Toxoplasmosi
<i>Trichuris suis</i>	Tricurosi

Tabella VIII – Zoonosi occupazionali trasmesse dai suini.

Infatti le zoonosi rappresentano ancora una grave minaccia per la salute pubblica, ma molte di queste patologie vengono definite “neglette” cioè trascurate: non sono considerate prioritarie dal sistema sanitario sia a livello nazionale che internazionale benché coinvolgano centinaia di migliaia di persone, soprattutto nei paesi in via di sviluppo, e la maggior parte di esse possa essere prevenuta.

3. ECHINOCOCCOSI CISTICA O IDATIDOSI

3.1. Introduzione

L'echinococcosi cistica (EC) o idatidosi è una zoonosi parassitaria causata dalla forma larvale del cestode *Echinococcus granulosus*. EC è per lo più endemica nelle zone rurali dove si pratica l'allevamento ovino, come l'Asia centrale e la Cina, il Sud America e Paesi del Mediterraneo dove i tassi di incidenza umani per EC possono raggiungere valori superiori al 50 per 100.000 persone/anno. Livelli di prevalenza più alti del 5-10% possono verificarsi in alcune parti dell'Argentina, Perù, Africa orientale, Asia centrale Cina (WHO, 2016).

Nel 2012 un gruppo di esperti congiunto FAO/WHO ha classificato *E. granulosus* al secondo posto tra i primi otto parassiti di origine alimentare in ordine di importanza globale per la salute pubblica (FAO/WHO, 2014). Tuttavia, rispetto ad altre malattie simili, EC ha ricevuto molta meno attenzione e finanziamenti (Tamarozzi et al., 2015; Budke et al., 2006), sebbene in numerose aree del mondo continui ad essere un importante problema di sanità pubblica, con conseguenti perdite economiche elevate. La patologia comporta, infatti, notevoli costi legati a: durata dell'ospedalizzazione, interventi chirurgici, controlli post-intervento, perdita di giornate lavorative, abbandono dell'attività lavorativa. In uno studio retrospettivo del Centro di Riferimento Nazionale per l'Echinococcosi (CeNRE), basato sulle Schede di Dimissione Ospedaliera dal 2001 al 2009, sul peso economico della Echinococcosi Cistica nell'area geografica a maggiore incidenza (Sardegna), sono stati valutati sia i costi diretti dovuti all'ospedalizzazione sia i *Disability Adjusted Life Years* (DALYs) ovvero il calcolo degli anni di vita persi a causa della disabilità. Il costo diretto medio per un caso di EC è stato valutato pari a Euro 5.970,92 per una spesa media annua di Euro 746.316,66. I DALYs totali sono risultati 505,40 (Conchedda et al., 2010). Scarsi o assenti inoltre risultano i dati e le informazioni ufficiali. Infatti EC umana è stata descritta come una patologia cronica, complessa e trascurata (Tamarozzi et al., 2015; Brunetti et al., 2011).

La mancanza di efficienti sistemi di *reporting* progettati per tener conto delle peculiarità di questa malattia si traduce in una sotto-segnalazione e/o in errate segnalazioni (*mis-reporting*). Il circolo vizioso che si crea: la sotto-segnalazione porta

alla percezione che EC non sia un problema di salute importante. Ciò a sua volta rende ancora più difficile il calcolo del “peso” della malattia e l'impatto sulla salute pubblica. Trascurare gli studi su EC ostacola la raccolta di dati di buona qualità necessari per lo sviluppo di programmi di controllo e strategie diagnostiche e terapeutiche basate sull'evidenza. Questo conduce infine ad una non ottimale gestione clinica dei casi. Ad aggravare tutto ciò sta il fatto che negli esseri umani le cisti idatidee crescono lentamente e spesso rimangono clinicamente silenti per molti anni (Tamarozzi et al., 2015; WHO, 2003; Frider et al., 1999). Pertanto i pazienti infetti possono essere diagnosticati anche dopo molto tempo e in un paese diverso da quello nel quale è stata acquisita l'infestazione, peggiorando la valutazione della distribuzione della patologia. EC in generale viene definita una zoonosi scarsamente considerata anche per altri motivi: a) è difficile interrompere il ciclo di vita di *E. granulosus* in assenza di programmi sostenuti, costosi e ben coordinati; b) il controllo dell'infestazione nell'uomo, al contrario di quanto avviene per l'infestazione nell'animale, non ha un impatto sulla diffusione globale dell'infestazione (EC non è percepita come un problema di salute animale importante, quindi non viene contrastata); c) la malattia colpisce soprattutto comunità povere di pastori, con un basso tasso di mortalità, ma con diagnosi e trattamento difficili e costosi e d) l'onere della EC è difficile da quantificare a causa della dispersione geografica in vaste aree rurali, dell'assenza di sintomi specifici e della mancanza di un sistema di registrazione efficace della malattia. Infatti EC è soggetta a sorveglianza secondo la legislazione europea ma i dati evidenziano che è assente in Italia un sistema di sorveglianza efficace. Di conseguenza non ci sono dati ufficiali trasmessi alle autorità europee e i dati epidemiologici riguardanti gli animali sono incompleti (EFSA, 2013; EFSA, 2015; EFSA, 2016).

Nonostante l'attenzione crescente al problema e il numero sempre più elevato di rapporti epidemiologici (Conchedda et al., 2010; Garippa, 2006; Brundu et al., 2014), le informazioni disponibili sulla distribuzione della EC in Italia risultano ancora incomplete e comunque insufficienti a valutarne, anche in maniera approssimativa, l'epidemiologia.

Le manifestazioni dell'infestazione sono oggetto di registrazione negli animali al momento della macellazione (Ordinanza del Ministero della Sanità, 1964) e, nonostante sia soggetta a sorveglianza secondo la legislazione europea (Decreto Legislativo n. 191 del 2006), la notifica di casi umani ha cessato di fatto di essere

obbligatoria nel 1991 (Decreto Ministero Sanità, 1990) ed è previsto il solo riepilogo annuale da parte delle ASL al Ministero. La diffusione della malattia appare infatti sottostimata, essendo i dati pubblicati largamente in difetto (ospiti animali intermedi), inattendibili (uomo) o quasi assenti (cani).

L'ampia distribuzione geografica della EC e l'elevato costo che comportano prevenzione e trattamento hanno determinato un grande interesse scientifico e normativo per l'argomento inserendola tra le patologie ad interesse occupazionale.

Infatti già nel 1975 il Comitato di Esperti WHO/FAO in SPV riconosce le zoonosi e i traumi causati dagli animali come rischi professionali (WHO/FAO, 1975).

Attualmente il Decreto Ministeriale del 27 aprile 2004 aggiornato dal Decreto Ministeriale del 11 dicembre 2009 e dal Decreto Ministeriale del 10 giugno 2014, inserisce negli elenchi molte zoonosi occupazionali del settore zootecnico e parazootecnico e tra queste anche l'EC (nella Lista I "malattie la cui origine lavorativa è di elevata probabilità" – Gruppo 3).

Anche il Testo Unico sulla salute e sicurezza sul lavoro (D. Lgs. 81/2008 e s.m.i.), dedica un intero titolo (X) all'esposizione ad agenti biologici e nello specifico allegato classifica l'EC come un agente biologico di gruppo 3, cioè ad elevato rischio individuale per il lavoratore. Inoltre lo stesso Decreto mette in evidenza l'importanza della protezione dei lavoratori agricoli da agenti biologici; in particolare l'allegato IX al punto 2, cita espressamente l'agricoltura quale settore a rischio da agenti biologici.

L'origine professionale di tale malattia parassitaria continua ad avere un'importanza fondamentale e ciò risulta evidente dai dati epidemiologici raccolti in varie regioni delle macroaree Centro e Sud-Isole (ISTAT, 2008; Varcasia et al., 2011).

3.2. Cenni storici

Anche se l'echinococcosi cistica ha una lunga storia che risale a tempi antichi, è ancora oggi una zoonosi importante con considerevole impatto socio-economico, e coinvolge l'uomo, attraverso lo sviluppo della forma larvale del parassita, in molte parti del mondo (WHO/OIE, 2001; Craig e Pawlowski, 2002; Torgeson e Macpherson, 2011).

La forma larvale (metacestode) del parassita *E. granulosus* è rappresentata da vesciche (cisti), spesso di dimensioni grandi e variabili, piene di liquido trasparente chiamati idatidi (dal greco ὑδατίς=vescichetta piena d'acqua). Le prime descrizioni di idatidi risalgono all'antichità, ai tempi di Ippocrate (460-377 a.C.), che scrisse nei suoi aforismi (VII, 55) "in coloro cui l'acqua ha riempito il fegato si apre nell'omento, la pancia è piena d'acqua e loro muoiono" (Neisser, 1877; Fuchs, 1895).

Galeno (129-200 a.C.) considerava il fegato come principale sito delle idatidi e descrisse la loro presenza in animali da macello (Hosemann et al., 1928).

Circa nel 50 d.C. Aretaeus (o Aretaios) di Cappadocia descrisse nel suo lavoro *De causis et signis morborum* differenti quadri clinici: lui aveva notato che nei pazienti con ascite possono essere presenti nell'addome numerose bolle piccole e piene di liquidi e che alcuni liquidi fuoriescono quando si tenta di fare una puntura addominale con un "trocar" (strumento chirurgico, con una estremità appuntita solitamente triangolare) (Neisser, 1877). Nei periodi successivi, è stata ripetutamente descritta in letteratura la presenza di idatidi negli animali e nell'uomo (XVI e XVII secolo). Il tedesco Wolckerus descrisse un presunto ascesso, dal quale erano fuoriuscite 300 vesciche piene d'acqua (Neisser, 1877; Langenbuch, 1890).

Nel 1679 Théophile Bonet (1620-89) a Ginevra pubblicò una sintesi della sua conoscenza anatomo-patologica (studio sul cadavere) in un lavoro, in cui erano descritti molti casi di reperti ottenuti al tavolo anatomico, intitolato *Sepulchretum sive anatomia practica* (Ackerknecht, 1989), contenente accenni su alcuni pazienti che presentavano idatidi (Langenbuch, 1890). Fino all'età moderna (anni 1500-1800), la vera natura degli idatidi rimase sconosciuta e prima di quel tempo le stesse furono considerate come ghiandole degenerate, come accumuli di siero o muco tra strati di cellule laminari o come discendenti dei cosiddetti vasi sanguigni. Le prime indicazioni della natura animale dei metacestodi si hanno con le osservazioni di Francesco Redi

(1626-97) che riconobbe nel 1684 a Firenze che i cisticerchi (metacestodi di *Taenia* spp.) erano in grado di muoversi come animali (Grove, 1990).

Peter Simon Pallas (1741-1811), nato a Berlino, descrisse le idatidi nella sua dissertazione medica nel 1760 (presentato all'Università di Leiden/Paesi Bassi) come "piccoli corpi" sulla parete interna delle vesciche (Neisser, 1877; Enigk, 1986). In questi piccoli corpi il sacerdote John August Ephraim Goeze (1731-93) in Quedlinburg (Germania) riconobbe nel 1782 gli scolici dei parassiti intestinali.

Nel 1801 Carl Asmund Rudolphi (1771-1832) (laureato in biologia nel 1773 e in medicina nel 1795 presso l'Università di Greifswald/Germania) introdusse il termine *Echinococcus* in zoologia (Rudolphi, 1801).

3.3. Tassonomia

PHYLUM	PLATYHELMINTHES
CLASSE	CESTODA
SOTTOCLASSE	EUCESTODA
ORDINE	CYCLOPHILLIDEA
FAMIGLIA	TAENIDAE
GENERE	<i>ECHINOCOCCUS</i>

Echinococcus Rudolphi, 1801 è un piccolo platelminta appartenente alla classe Cestoda (Tabella IX). Il genere *Echinococcus* è un gruppo monofiletico di specie caratterizzate da piccoli vermi adulti e larve (metacestodi) con ampia riproduzione asessuata. Gli ospiti definitivi sono rappresentati da animali carnivori, di solito canidi o felini, e l'infestazione viene acquisita mangiando erbivori o onnivori intermedi parassitati.

L'importanza clinica e socio-economico della parassitosi sono quasi completamente limitate all'infestazione con la forma metacestode. La "malattia idatidica", "l'idatidosi" e "l'echinococcosi" sono tutti termini utilizzati per far riferimento all'infestazione causata dalla forma metacestode del parassita. In senso stretto, i termini idatidici e idatidosi dovrebbero essere limitati all'infestazione con la forma metacestode ed echinococcosi all'infestazione causata dallo stadio adulto. Tuttavia, più recentemente, è stato raggiunto un consenso sull'uso del termine echinococcosi per chiarire la distinzione tra le malattie umane causate dalla forma metacestode di *Echinococcus granulosus* ed *Echinococcus multilocularis*: echinococcosi cistica (EC) e echinococcosi

alveolare (EA) rispettivamente. *Echinococcus oligarthra* e *Echinococcus vogeli*, invece, entrambi, causano nell'uomo echinococcosi policistica (PE) (Lymbery e Thompson, 2012; Thompson e Lymbery, 1990; Thompson e Lymbery, 1996).

PLATYHELMINTHES	Tegumento molle, triploblastico e acelomatico; appiattito dorso-ventralmente con rivestimento esterno del corpo cellulare; sistema escretore protonefridiale
CESTODA	Endoparassiti specializzati privi di apparato digerente; l'assorbimento delle sostanze nutritive liquide avviene tramite il tegumento del corpo che è provvisto di prolungamenti detti microtrichi.
EUCESTODA	Verme piatto con una "testa", scolice, dotata di ventose per l'ancoraggio e poi, di un lungo corpo con falsa segmentazione chiamato strobila formato da migliaia di proglottidi, segmenti contenenti uova che una volta maturi si staccano dal corpo del parassita e fuoriescono attraverso le feci; ermafrodita con cicli di vita indiretti.
CYCLOPHILLIDEA	scolice con quattro ventose e un rostello normalmente armato di ganci; strobila costituito da proglottidi in varie fasi di sviluppo (ogni proglottide chiaramente demarcata da una segmentazione esterna); uova rotonde, non operculate, contenenti oncosfera non ciliata a sei uncini
TAENIDAE	Adulti che vivono nel piccolo intestino di carnivori e di esseri umani; ospiti intermedi tutti i mammiferi; scolice con rostello solitamente armato con doppia fila di uncini; genitali disgiunti in ogni proglottide con porzioni genitali marginali che si alternano irregolarmente; uova con guscio indurito radialmente striato (embrione).

Tabella IX – Classificazione di *Echinococcus* (Fonte: Thompson, 2017).

Echinococcus è una vera tenia (Sottoclasse Eucestoda) e come tale esibisce le caratteristiche che distinguono questa Famiglia (Tabella IX) ma è un genere

geneticamente non omogeneo. Infatti, in merito alla sua classificazione c'è stata una grande confusione tassonomica: molte specie sono state descritte e altrettante sono state invalidate. Ciò che è chiaro, tuttavia, dalle prime descrizioni del parassita, è che il genere *Echinococcus* presenta notevoli variabilità di specie sia in termini di specificità dell'ospite, morfologia, antigenicità, tasso di sviluppo e cicli di trasmissione (Lymbery e Thompson, 2012; Thompson e Lymbery, 1988; Thompson e McManus, 2001; Thompson e McManus, 2002; Thompson, 2008).

Prima dell'utilizzo diffuso delle tecniche di genetica molecolare, sono state descritte all'interno del genere un totale di 16 specie e 13 sottospecie. Tale classificazione è stata condotta attraverso l'analisi e descrizione delle caratteristiche morfologiche, ma la maggior parte di questi taxa (dal greco $\tau\alpha\lambda\iota\varsigma$ = taxis, "ordinamento" o unità tassonomica) sono stati successivamente invalidate da Rausch (1953), Vogel (1957), Rausch e Nelson (1963) e Schantz et al. (1976), lasciando solo quattro specie valide: *E. granulosus* (con la sottospecie *E. g. granulosus* ed *E. g. canadensis*); *E. multilocularis* (con la sottospecie *E. m. multilocularis* e *E. m. sibiricensis*); *E. oligarthra* (= *oligarthus*); e *E. vogeli* (Rausch, 1953; Vogel, 1957; Rausch, 1963; Schantz et al., 1976). Tuttavia l'interesse in relazione alla base genetica delle differenze fenotipiche, in particolare per quanto riguarda la morfologia, la specificità dell'ospite intermedio e l'evidenza dell'isolamento riproduttivo, sono stati i motivi principali che hanno spinto a mettere in discussione lo status tassonomico di alcune specie.

Smyth e Davies (1974) furono i primi a dimostrare che vi erano differenze significative nello sviluppo biologico tra isolati di *E. granulosus* di origine equina o ovina. Negli studi in vitro veniva mostrato che i protoscolici di isolati di *E. granulosus* di equino risultavano evaginati e aumentati in lunghezza ma non andavano incontro a progliottizzazione o segmentazione, anche se cresciuti esattamente con le stesse modalità (Smyth e Davies, 1974). Questa osservazione piuttosto semplice ha provocato radicali cambiamenti nella comprensione dell'epidemiologia dell'echinococcosi, la loro tassonomia e le relazioni filogenetiche (Howell e Smyth, 1995; Thompson e Lymbery, 2013; Thompson et al., 2014). Tale studio ha fornito la base per comprendere la diversità di sviluppo ed infettività esistenti tra gli isolati provenienti da diverse specie di ospiti in varie parti del mondo (Smyth e Davies, 1974). L'importanza di questa variabilità sta nel fatto che questa può influenzare: il ciclo biologico, la specificità d'ospite, il tasso di sviluppo, la patogenicità, l'antigenicità, la sensibilità ai

chemioterapici e l'epidemiologia (Thompson e Lymbery, 1988; Thompson e McManus, 2001; Thompson e McManus, 2002; Thompson, 2008; Lymbery e Thompson, 2012). Dato il significato epidemiologico della variabilità intraspecie di *Echinococcus*, è stato necessario adottare una nuova nomenclatura, così si è sviluppato il concetto di "ceppo" (Thompson e McManus, 2002).

Il termine "ceppo" è stato usato in riferimento a varianti intraspecie di *Echinococcus* con fenotipo definito di incertezza tassonomica: molti dei taxa invalidati rientrarono in questa definizione (Thompson, 1986; Thompson e Lymbery, 1988). I ceppi sono stati inizialmente descritti basandosi ad esempio sulle differenze di ospiti (definitivi ed intermedi), la distribuzione geografica, la morfologia e la biologia dello sviluppo. Con questa descrizione la maggior parte dei ceppi furono attribuiti alla specie *E. granulosus*. Successivamente il termine ceppo in gran parte è stato sostituito dal termine genotipo e questo ha permesso di sviluppare un sistema numerico di classificazione dei vari ceppi. La conoscenza dei genotipi è stato un importante prerequisito per i programmi di controllo mirati a limitare la trasmissione del parassita nelle regioni endemiche. La maggioranza di ceppi/genotipi sono ora riconosciuti come specie distinte e la classificazione attuale, riveduta e modificata, è mostrata nella [Tabella X](#).

All'interno del genere vennero quindi distinti 10 genotipi, indicati da G1 a G10, differenziati in base ai polimorfismi della sequenza nucleotidica di alcuni geni, in particolare quelli del DNA mitocondriale (mtDNA), in: G1 (ceppo ovino), G2 (ceppo ovino della Tasmania), G3 (ceppo del bufalo), G4 (ceppo del cavallo), G5 (ceppo del bovino), G6 (ceppo del cammello), G7 (ceppo del suino), G8 (ceppo del cervo), G9 (ceppo del suino isolato nell'uomo), G10 (ceppo cervide fenno-scandinavo) (Lavikainen et al., 2003). Tuttavia la validità del ceppo G9 è stata messa in discussione, poiché esso sembra corrispondere al ceppo G7.

A metà degli anni '90 fu suggerito, a seguito di analisi filogenetiche (Lymbery, 1992), e sulla base dei dati dello studio delle sequenze di mtDNA (Bowles et al., 1995; Lymbery, 1995), che *E. granulosus* era un gruppo parafiletico, che comprendeva alcuni ceppi più strettamente correlati a *E. multilocularis*. Le revisioni tassonomiche iniziali portarono a dividere *E. granulosus* (*sensu lato*) in tre specie: *E. equinus* per G4, *E. ortleppi* per G5 e *E. granulosus sensu stricto* per G1, G2 e G3 (Thompson, 1995; Thompson e McManus, 2002).

Nel 2007, Huttner et al. segnalano in Uganda un “ceppo del leone”, che era stato già originariamente descritto in sud Africa da Ortlepp (Ortlepp, 1934; 1937) come *E. felidis* (Huttner et al., 2007). Nello stesso anno Nakao et al. proposero una revisione tassonomica di questi ceppi, in base alle loro relazioni filogenetiche valutate mediante analisi molecolare del genoma mitocondriale completo, a seguito della quale i genotipi G1, G2 e G3 vennero raggruppati in un’unica specie, *E. granulosus sensu stricto*; il ceppo equino G4 e il ceppo bovino G5 rappresenterebbero due nuove specie, rispettivamente *E. equinus* e *E. ortleppi* e ai restanti ceppi (G6, G7, G8 e G10) fu concesso lo status di specie come *E. canadensis* (Nakao et al., 2007). Una revisione alternativa propose invece di unificare solo G8 e G10 in *E. canadensis*, mentre G6, G7 e G9 potrebbero rappresentare una nuova specie.

Nel periodo 2005-2008 vennero inoltre introdotti ulteriori cambiamenti tassonomici, Xiao et al. (2005) descrissero una nuova specie (*E. shiquicus*), strettamente correlata a *E. multilocularis* e, dal Tibet, Hüttner et al. (2008) introdussero nuovamente la specie *E. felidis*, originariamente descritta in Sudafrica (Xiao et al., 2005; Xiao et al., 2006; Huttner et al., 2007; Ortlepp, 1934; Ortlepp, 1937). Come conseguenza di queste revisioni e nuove descrizioni, nove specie valide sono attualmente riconosciute nel genere *Echinococcus* (Tabella X).

Sebbene siano stati compiuti notevoli progressi nel chiarire la tassonomia nell’ambito del genere *Echinococcus*, le variazioni genetiche possibili all’interno delle specie descritte potrebbero determinare in futuro ulteriori revisioni tassonomiche. Ad esempio, Lymbery et al. (2015) hanno suggerito, sulla base delle differenze nelle sequenze mtDNA, sulla base della morfologia e del ciclo di vita di popolazioni (apparentemente) simpatiche (occorrono nella stessa area e sono capaci di venire in contatto) che *E. canadensis* può rappresentare tre specie separate (Lymbery et al., 2015). Inoltre è stata trovata una sostanziale diversità genetica tra popolazioni geograficamente separate di *E. multilocularis* (Nakao et al., 2009), *E. vogeli* (Santos et al., 2012) e *E. oligarthra* (Soares et al., 2013), ma al momento non esiste alcuna base per il riconoscimento tassonomico di queste differenze (Nakao et al., 2009; Santos et al., 2012; Soares et al., 2013).

Specie	Ceppo/Genotipo	Ospiti intermedi conosciuti	Ospiti definitivi conosciuti	Infettività per l'uomo	Patologia
<i>Echinococcus granulosus</i>	Ovino/G1	Ovini (bovini, suini, cammelli, caprini, macropodi)	Canidi, volpi, dinghi, sciacalli, iene	SI	CE
	Ovino della Tasmania/G2	Ovini (bovini?)	Canidi, volpi	SI	CE
	Bufalo/G3	Bufali (Bovini?)	Canidi, volpi?	SI	CE
<i>Echinococcus equinus</i>	Cavallo/G4	Cavalli e altri equini	Canidi	Probabilmente no	CE?
<i>Echinococcus ortleppi</i>	Bovino /G5	Bovini	Canidi	SI	CE
<i>Echinococcus canadensis</i>	Cervo/G8	Cervidi	Lupi, canidi	SI	CE
<i>Echinococcus intermedius</i>	Cammello/Suino/G6/G7	Cammelli, suini, ovini	Canidi	SI	CE
<i>Echinococcus felidis</i>	Leone	Facoceri (zebre, gnu, potamochei, bufali, varie antilopi, giraffe, ippopotami?)	Canidi, leoni	?	--
<i>Echinococcus multilocularis</i>	Alcune varianti isolate	Roditori, suini domestici e selvatici, cani, scimmie, (cavalli?)	Volpi, canidi, felini, lupi, procioni, coioti	SI	AE
<i>Echinococcus shiquicus</i>	?	Pica e?	Volpi tibetane e?	?	AE?
<i>Echinococcus vogeli</i>	Non riportato	Roditori	Canidi selvatici	SI	PE
<i>Echinococcus oligarthra</i>	Non riportato	Roditori	Felini selvatici	SI	PE

AE: echinoccosi alveolare; CE: echinoccosi cistica; PE; echinoccosi policistica (Fonte: Thompson, 1995; Thompson, 2002; Romig, 2005; Thompson, 2008; Thompson, 2014).

Tabella X – Classificazione del genere *Echinococcus*.

In aggiunta, potrebbero esistere ulteriori specie sconosciute in particolar modo in alcune parti del mondo dove la fauna parassitaria è stata meno studiata rispetto all'Europa e al Nord America. Per esempio, in Africa i primi tassonomisti avevano descritto un certo numero di specie di *Echinococcus* che successivamente furono invalidate; studi recenti, tuttavia, hanno evidenziato che la diversità genetica di *Echinococcus* spp. nella fauna africana è ben lungi dall'essere chiara ed è possibile che alcuni di questi taxa invalidati debbano essere successivamente rivisitati.

Ogni ceppo descritto nell'attuale classificazione tassonomica di *Echinococcus* (Tabella X) (Romig et al., 2011; Wassermann et al., 2015) ha una distribuzione geografica distinta (Tabella XI) (Lymbery, 2017; Nakao et al., 2013).

Nella Tabella XI sono elencate le specie attualmente riconosciute all'interno del genere *Echinococcus*, in base alla classificazione proposta da Nakao (Nakao et al., 2013). Gli ospiti e la distribuzione geografica descritti nella tabella sono indicativi. Sono inclusi solo gli ospiti che hanno un ruolo maggiore nel ciclo di trasmissione del parassita. Viene descritta la distribuzione continentale del parassita ma tale informazione all'interno dei singoli continenti può essere irregolare.

Il ceppo ovino G1 è diffuso in tutti i continenti, presenta i più alti tassi d'infestazione nei paesi in cui viene praticato un allevamento ovino di tipo estensivo ed è inoltre il genotipo più comunemente associato con casi di EC dell'uomo (WHO/OIE, 2001).

Il ceppo G2, differente per alcune caratteristiche genetiche dal ceppo G1, inizialmente si riteneva fosse confinato alla zona di origine (Tasmania) attualmente viene identificato in Asia, Sud America, Africa ed Europa, mentre il ceppo G3 è stato riscontrato in Asia, Europa e Sud America.

Il ceppo G4, *E. equinus*, ha come ospite intermedio l'equino, inizialmente è stato descritto in Belgio, Irlanda, Svizzera e Regno Unito successivamente si è diffuso nelle regioni del bacino del Mediterraneo quali Spagna, Italia, Libano, Siria e in Sud Africa. Dati recenti ne indicano l'isolamento in cavalli autoctoni in Germania e in Turchia (Utuk e Simsek, 2012).

Il ceppo G5, *E. ortleppi*, è stato documentato in Europa, Africa, parte dell'Asia e in Sud America.

Il ceppo del cammello G6, descritto nel cammello e nella capra, è diffuso in Medio Oriente, Africa, Asia e Sud America; sono stati riportati casi nell'uomo in Nepal, Iran, Mauritania, Kenya ed Argentina (Dinkel et al., 2004; Thompson et al., 2002).

Il G7, *E. canadensis*, è presente in Europa (Spagna e Italia), Asia, Africa e Sud America. Inizialmente i genotipi G6-G7 erano gli unici ad essere stati descritti in Slovacchia e in Lituania, dimostrando come in queste zone il ciclo suino-cane fosse predominante (Cardona e Carmena, 2013).

Il ceppo G9 è stato descritto solo in casi umani in Polonia e, come detto in precedenza, alcuni autori ritengono possa essere una variante del ceppo G7 del suino.

Va menzionata poi una variante genetica, poco caratterizzata, il “ceppo del leone” indicato come *E. felidis*, riscontrato in Africa e trasmesso tra leoni e ungulati selvatici.

Specie	Ospiti definitivi	Ospiti intermedi	Distribuzione
<i>E. oligarthra</i>	Felini selvatici	Roditori (aguti)	Sud e Centro America
<i>E. vogeli</i>	Cane selvatico	Roditori (paca)	Sud e Centro America
<i>E. granulosus</i>	Cane domestico	Ovini, molti altri ungulati	Cosmopolita
<i>E. felidis</i>	Leone, iena	Sconosciuti	Africa
<i>E. equinus</i>	Cane domestico	Cavallo, altri equidi	Eurasia, Africa
<i>E. multilocularis</i>	Volpe	Roditori (arvicolini)	Nord e Centro Eurasia, Nord America
<i>E. shiquicus</i>	Volpe tibetana	Mammiferi lagomorfi (Pika)	Altopiano Tibetano
<i>E. ortleppi</i>	Cane domestico	Bovini	Eurasia, Africa
<i>E. canadensis</i>	Cane domestico, lupo	Suini, cammelli, cervidi	Eurasia, Africa e Sud America

Tabella XI - Specie attualmente riconosciute all'interno del genere *Echinococcus*

(Fonte: Lymbery, 2017).

In Italia sono stati riscontrati i ceppi G1, G2 e G3 negli ovini (Busi et al., 2007), il ceppo G3 nelle capre, (Calderini et al., 2012) i genotipi G1, G2, e G3 (Busi et al., 2007; Casulli et al., 2008; Rinaldi et al., 2008b), il genotipo G5 nel bovino (Casulli et al., 2008), il ceppo G1 nei bufali (Capuano et al., 2006).

3.4. La morfologia e biologia di *Echinococcus*

La maggior parte di ciò che sappiamo della biologia dello sviluppo di *Echinococcus* e della relazione parassita-ospite deriva da studi condotti sulla forma larvale (metacestode).

Le difficoltà pratiche ed etiche, così come le preoccupazioni sulla sicurezza nell'intraprendere studi in vivo negli ospiti definitivi di *Echinococcus*, è stato un importante fattore limitante nello studio dello sviluppo del parassita adulto.

Se non fosse per gli studi pionieristici di Smyth (Howell e Smyth, 1995; Smyth et al., 1966; Smyth e Davies, 1974; Thompson e Lymbery, 2013) sullo sviluppo di sistemi in vitro per lo studio della biologia dello sviluppo degli stadi larvali e adulto, il principio di differenziazione, le relazioni parassita-ospite e la biologia dell'evoluzione (Smyth, 1969; Smyth et al., 1966) è improbabile che sarebbero stati scoperti in un'epoca formativa della parassitologia in cui sono state sviluppate ipotesi che hanno influenzato la successiva ricerca emergente sviluppata nell'ambito della genomica (Thompson e Lymbery, 2013).

Lo stadio Adulto

E. granulosus è una piccola tenia, di lunghezza variabile da 2 a 7 mm, costituita da testa, collo e strobilo. La testa o scolice presenta quattro ventose tondeggianti disposte in posizione equatoriali ed è armata, ovvero munita di un rostello con una doppia corona di uncini, una piccola (22-39 micron) ed una grande (31-49µm). Il corpo o strobilo è normalmente costituito da 3 o 4 proglottidi, che in alcuni casi possono raggiungere il numero di 6 (Figura 4) (Euzeby, 1968).

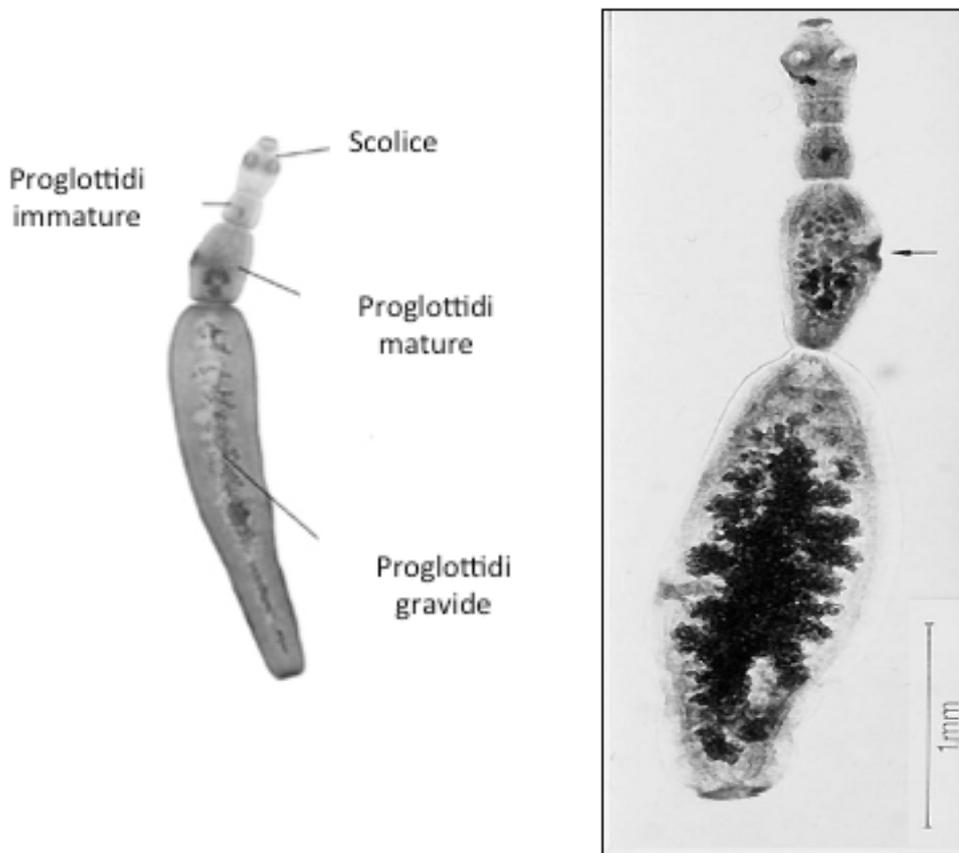


Figura 4 – *Echinococcus granulosus* (adulto) (Fonte: Swanton e Wildsmith, 2008).

L'ospite definitivo acquisisce l'infestazione attraverso l'ingestione di protoscolici vitali. Questi possono essere ingeriti quando ancora sono inseriti all'interno della cisti idatidea: le azioni masticatorie dell'ospite possono contribuire a rompere la cisti e liberare le capsule proligere. Il processo di excistamento - rimozione delle capsule proligere e altri tessuti cistici - viene ulteriormente supportato dall'azione della pepsina presente nello stomaco. Nella fase precedente all'ingestione, la regione apicale del protoscolice (ventose, rostellum e uncini) è invaginato all'interno della regione basale con rivestimento mucopolisaccaride del tegumento del protoscolice stesso (Figura 5).

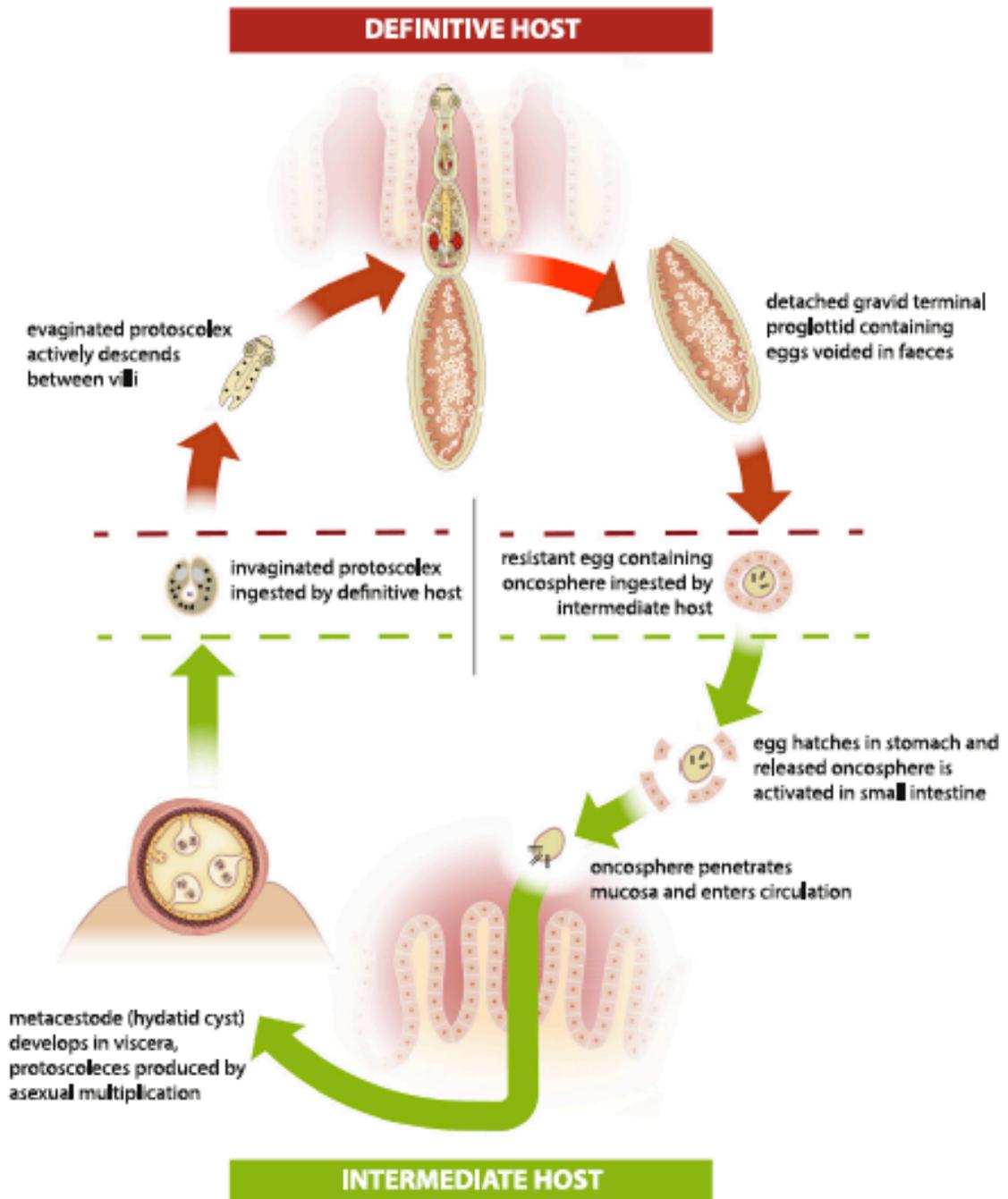


Figura 5 – Biologia di *Echinococcus* (Fonte: Thompson, 2017).

Questo rivestimento protegge lo scolice finché non viene stimolata l'evaginazione. In cani sperimentalmente infestati con protoscolici evaginati di *E. granulosus*, vengono prodotti un numero minore di parassiti adulti rispetto ai cani infestati con protoscolici invaginati. La natura precisa dello stimolo per l'evaginazione non è nota. I protoscolici sono sensibili ai cambiamenti ambientali e evaginano in risposta a variazioni di temperatura, pressione osmotica e allo scuotimento (Thompson, 1995). Le condizioni

aerobiche sono importanti per l'evaginazione mentre enzimi specifici o la bile non sono essenziali, sebbene il tasso di evaginazione risulti aumentato in presenza di bile (Smyth, 1967; 1969).

Nell'ospite definitivo il tempo necessario per l'evaginazione è variabile: la maggior parte dei protoscolici risultano evaginati dopo 6 ore ma la completa evaginazione richiede fino a 3 giorni. A seguito dell'evaginazione, i protoscolici sono inizialmente molto attivi e mobili poiché devono localizzarsi e attaccarsi rapidamente alla superficie della mucosa, all'interno delle cripte di Lieberkuhn, per evitare di essere spazzati via dai movimenti del piccolo intestino (intestine tenue). Alcuni sono posizionati all'interno delle cripte già dopo 6 ore dall'infestazione (Thompson, 1977). L'aumento della motilità è determinato da un sistema nervoso ben sviluppato e una ricca riserva energetica di glicogeno (Brownlee et al., 1994; Camicia et al., 2013; Smyth, 1967). Infatti i protoscolici evaginati sono ricchi di glicogeno che ha la funzione di riserva energetica, sebbene questo venga rapidamente consumato, di solito entro 3 ore (Smyth, 1967). I parassiti che si stanno sviluppando si attaccano ai tessuti attraverso le loro ventose (Smyth, 1969; Thompson, 1979). Gli uncini penetrano superficialmente nell'epitelio della mucosa e la loro forma assicura che agiscano come ancore per contribuire a prevenire che il parassita venga rimosso (Figura 6).

La distribuzione intestinale del parassita adulto è irregolare lungo l'intestino con la maggior parte dei parassiti situati nelle regioni prossimali (Constantine, 1998).

Non è noto quale sia la modalità che consente a *Echinococcus* di migrare all'interno dell'intestino tenue, sebbene sia descritto il suo movimento tra villi adiacenti. Constantine et al. (1998) hanno scoperto che l'adulto di *E. granulosus*, nei cani, cambia posizione all'interno dell'apparato digerente per formare aggregati, ciò ha portato a differenze di distribuzione e di densità del parassita lungo l'intestino. Se questo sia dovuto ad un fenomeno di attrazione tra parassiti e/o a particolari caratteristiche del microambiente non è chiaro (Constantine et al., 1998).

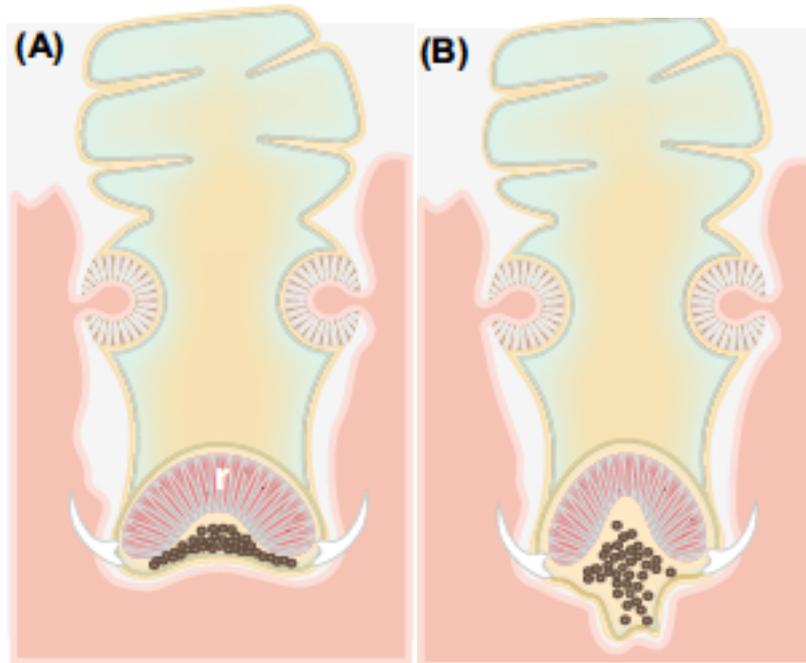


Figura 6 – *Echinococcus* adulto in situ nell'intestino dell'ospite, lo scolice, con le ventose, afferra l'epitelio alla base dei villi. Il *rostellum* è inserito nella cripta di Lieberkühn (A e B) e l'estensibilità della regione apicale è mostrata in (B) (Fonte: Thompson e Jenkins, 2014).

Anche se l'adulto di *Echinococcus* può alterare la sua posizione e muoversi su e giù tra villi adiacenti, durante lo sviluppo, questo non può verificarsi una volta che il parassita raggiunge la maturità (Constantine et al., 1998). Entro il 35° giorno dopo l'infestazione il verme adulto di *E. granulosus* si trova in una posizione caratteristica: il rostellum è profondamente inserito in una cripta di Lieberkuhn con la regione apicale mobile completamente allungata, gli uncini superficialmente penetrano l'epitelio della mucosa e le ventose afferrano l'epitelio alla base dei villi (Figura 7) (Smyth, 1969; Thompson et al., 1979).

Echinococcus ha una regione rostellare apicale molto mobile ed estensibile. L'estensione di questa regione nelle cripte coincide con l'inizio dell'attività secretiva della ghiandola rostellare (Figura 6).

Le cripte di Lieberkuhn possono rappresentare un luogo con particolare potere nutritivo per la forma adulta di *Echinococcus*. I nutrienti potrebbero essere derivati dalla lisi delle cellule ospitanti, sebbene non vi sia alcuna prova che dimostri che la secrezione delle ghiandole rostellari abbia potere citolitico o attività enzimatica. La

secrezione può quindi essere associato alla maturazione delle uova e/o alla successiva liberazione della proglottide gravida (apolisi) (Thompson et al., 1982; Irshadullah et al., 1990). Un'altra possibile funzione della secrezione delle ghiandole rostellari è quella di protezione. È possibile che la secrezione possa proteggere il parassita inibendo o inattivando gli enzimi digestivi dell'ospite o interferendo con i suoi meccanismi immunitari. Tuttavia la presenza del parassita adulto non resta inosservata da parte dell'ospite, infatti viene stimolata una risposta umorale specifica con produzione di anticorpi IgG circolanti (Jenkins e Rickard, 1986). Deplazes et al. (1993) hanno anche dimostrato una produzione umorale locale, IgG e IgA, e reazioni cellulari all'interno dell'intestino dei cani sperimentalmente infestati da *E. granulosus* (Deplazes et al., 1993).

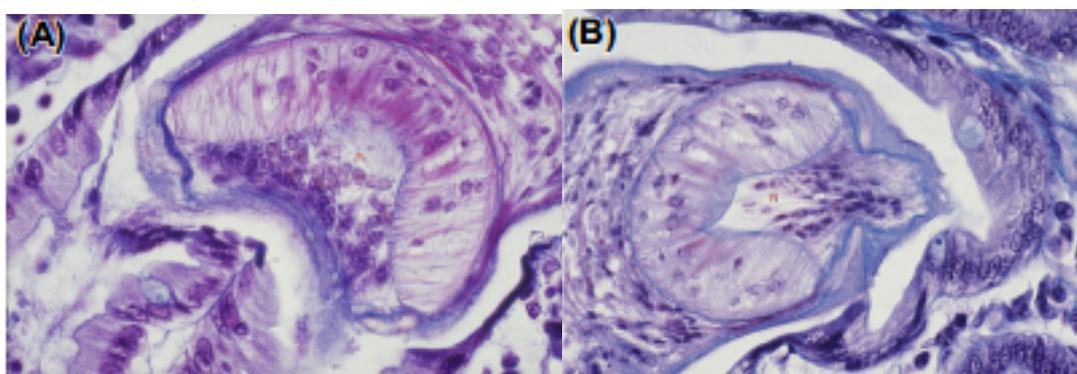


Figura 7 – Sezione di parete mucosa dell'intestino tenue di un cane che mostra il rostellum di *Echinococcus granulosus* profondamente inserito in una cripta di Lieberkühn: la ghiandola rostellare apicale (R) ritratta (A) e protesa (B). Sezione colorata con Martius Scarlet Blue x60 (Fonte: Smyth, 1964).

Lo sviluppo del parassita adulto comporta il differenziamento germinale e somatico e può essere suddiviso nei seguenti processi: proglottizzazione, maturazione crescita e segmentazione (Thompson et al., 1995). Il differenziamento germinale comprende la proglottizzazione, che si riferisce alla formazione sequenziale di nuove unità riproduttive (proglottidi) e la loro maturazione. La differenziazione somatica consiste nella crescita, cioè l'aumento delle dimensioni e la delimitazione somatica di ciascuna proglottide per segmentazione (strobilazione). La crescita di dimensioni del parassita, definite dalla sua lunghezza totale, presenta un aumento lineare costante durante i

primi 35 giorni dall'infestazione, ad eccezione di un ritardo osservato nei primi 3 giorni. In alcuni cestodi, compreso *Echinococcus*, la proglottizzazione può verificarsi senza segmentazione. La demarcazione di ogni proglottide è puramente un fenomeno esterno causato da un ripiegamento del tegumento che dà origine al caratteristico restringimento. Il primo segno della vera proglottizzazione è la formazione di un rudimento genitale che può già apparire 11 giorni dopo l'infestazione ed è separato dallo scolice da una banda chiara. A partire dal 14° giorno la prima proglottide è chiaramente evidente e appare come un corpo di macchia scura che si demarca dallo scolice attraverso un ripiegamento trasversale del tegumento, in questo modo si delimita il primo segmento. Entro 1-2 giorni dal rudimento genitale si forma una diramazione laterale che finalmente si aprirà all'esterno attraverso i pori genitali. Le successive fasi di maturazione seguono il modello generale dei cestodi e sono riassunte in [Figura 8](#).

Le proglottidi più prossime al collo sono quelle sessualmente immature, seguono quelle mature, con organi sessuali atti alla riproduzione e, successivamente, quelle gravide in cui sono presenti le uova. Ogni proglottide è dotata di un apparato genitale maschile e di uno femminile ed è provvista di un solo poro genitale. *Echinococcus* adulto è quindi ermafrodita e capace di autofecondarsi (Smyth, 1969).

L'ermafroditismo combinato con l'autoinseminazione è ovviamente un vantaggio per un piccolo parassita come *Echinococcus*, che, con difficoltà, potrebbe unirsi ad un altro parassita adulto, in particolare nelle infestazioni leggere.

L'inizio della produzione delle uova in *E. granulosus* varia da 34 a 58 giorni. Il numero di uova prodotte non è certo, i dati disponibili riportano numeri estremamente variabili compresi tra 100-1500 uova per proglottide (Heath e Lawrence, 1991; Rausch, 1975; Thompson e Eckert, 1982). Allo stesso modo non si conosce con esattezza la frequenza con cui si formano le proglottidi gravide: si stima che nei primi 40 giorni dall'infestazione se ne formi una ogni 7-14 giorni (Gemmell, 1962; Smyth, 1964; Schantz, 1982).

Non è noto inoltre quanto tempo il parassita adulto possa sopravvivere nell'ospite definitivo. È stato osservato sperimentalmente che i parassiti adulti diventano senescenti dopo 6-20 mesi, anche se possono vivere fino a 2 anni o più (Schantz, 1982). La mancanza di questi dati non consente di determinare con precisione il potenziale riproduttivo di *Echinococcus* nell'ospite definitivo.

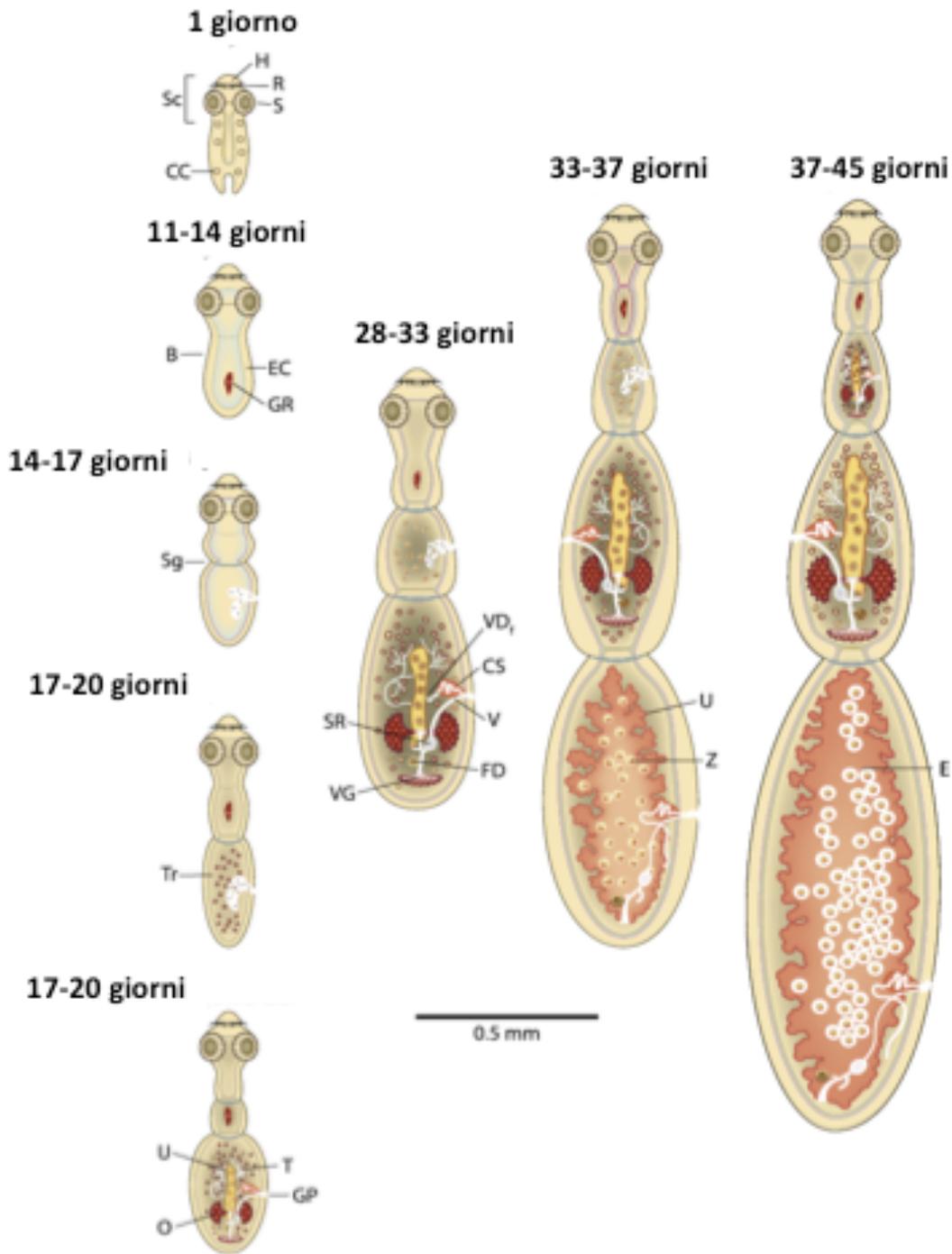


Figura 8 - Stadi di sviluppo dell'adulto di *Echinococcus granulosus* nell'ospite definitiva.

B: banda; CC: corpuscoli calcarei; CS: sacco del cirro; E, uova embrionate; CE: canale escretorio; FD: dotti riproduttivi femminili; GP: poro genitale; GR: rudimento genitale; H: uncini, O: ovaio; R: rostellum; S: ventosa; Sc: scolice; Sg: segmentazione; SR: ricettacolo seminale; Tr: testicoli rudimentali; T: testicoli; U: utero; V: vagina; VDF: vasi deferenti; VG: ghiandola vitellina; Z: zigoti. Scala: 0,5 mm. Basato su disegno originale di L.M. Kumaratilake.

Le uova di *Echinococcus* possono essere sferiche o ovali con dimensioni variabili da 30-50x22-44 μ m. All'esame microscopico sono morfologicamente indistinguibili da quelle degli altri cestodi appartenenti alla famiglia Taenidae. Infatti, studi ultrastrutturali effettuati sulle uova di *E. granulosus*, *E. multilocularis* e diverse specie di *Taenia*, hanno evidenziato strutture simili, composte da una serie di strati e/o membrane che avvolgono l'embrione esacanto o oncosfera. L'uovo, contiene l'embrione esacanto o oncosfera protetto da una serie di strati e/o membrane (dall'esterno verso l'interno): capsula, membrana vitellina, embrioforo, strato granulomatoso, membrana oncosferica (Figura 9) (Morseth, 1965; Swiderski, 1982).

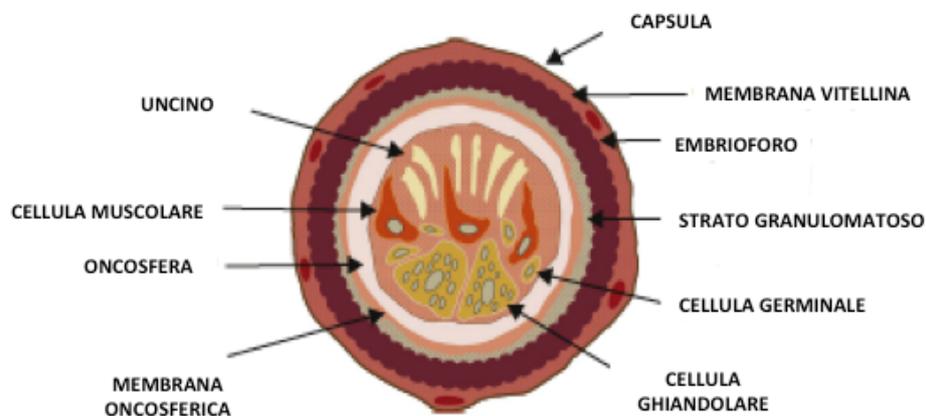


Figura 9 – Uova di *Echinococcus* (sezione) (Fonte: Thompson, 1995).

L'embrioforo è un rivestimento formato da blocchi poligonali di una proteina simile alla cheratina che funge da protezione per l'embrione esacanto, conferendo all'uovo una forte resistenza a diversi fattori chimico-fisici e climatici (Gemmell et al., 1986).

La capacità di sopravvivenza delle uova è maggiore a basse temperature: a 21°C e con sufficiente umidità, esse permangono vitali per oltre 28 giorni; a 7°C la loro sopravvivenza è di circa 294 giorni. Al di sotto di 0°C (da -35°C a -50°C) le uova possono resistere per 24 ore conservando la loro capacità infestante, mentre a -70°C si devitalizzano nell'arco di poche decine di minuti. A temperature elevate (60-100°C) le uova resistono da 1 a 2 minuti (Laws, 1968; Thompson et al., 1995). Tuttavia, più che la

temperatura, è l'umidità a limitarne la sopravvivenza infatti in natura l'essiccamento è il principale responsabile della morte delle uova (Laws, 1968).

Quando sono ingerite da un idoneo ospite intermedio, le uova vitali di *Echinococcus* si schiudono nello stomaco e nell'intestino tenue. L'apertura delle uova è un processo a due step che comporta (1) la disgregazione dell'embrioforo nella stomaco e intestino e (2) l'attivazione dell'oncosfera e sua liberazione dalla membrana oncosferica (Holcman e Heath, 1997; Jabbar et al., 2010).

La disgregazione dell'embrioforo sembra richiedere l'azione di enzimi proteolitici, tra cui pepsina e pancreatina presenti nello stomaco e/o nell'intestino. L'attivazione dell'oncosfera invece sembra possa essere stimolata a seguito di cambiamenti nella permeabilità di membrana provocati dalle proprietà di attivazione superficiale dei sali biliari. Questo ha portato a pensare che la bile possa svolgere un ruolo nella determinazione della specificità dell'ospite intermedio, poiché la sua composizione varia tra diverse specie di vertebrati (Smyth, 1969). Tuttavia la situazione non è certamente così semplice dal momento che sono state osservate uova di *E. granulosus* schiuse in siti extraintestinali compreso il polmone, il fegato e la cavità peritoneale di ovini e roditori inoculati sperimentalmente mediante tracheotomia o iniezione intraperitoneale (Blood e Lelijveld, 1969; Borrie et al., 1965; Colli e Williams, 1972; Kumaratilake e Thompson, 1981; Williams e Colli, 1970).

L'oncosfera liberata e attivata mostra intricati movimenti ritmici coinvolgendo il corpo e gli uncini; questo movimento coordinato viene generato grazie alla presenza di un complesso sistema muscolare (Swiderski, 1983). Studi in ovini e conigli hanno mostrato che l'oncosfera di *E. granulosus* penetra all'estremità dei villi nella porzione intestinale del digiuno e nella porzione superiore dell'intestino tenue (Heath, 1971). L'oncosfera inizialmente si attacca al bordo dei villi, presumibilmente utilizzando i suoi uncini come ancore, e migra rapidamente attraverso il bordo epiteliale dei villi, raggiungendo la lamina propria in 3-120 minuti dopo essersi schiusa (Lethbridge, 1980; Jabbar et al., 2010). La penetrazione sembra coinvolgere i movimenti degli uncini e del corpo, forse aiutati nella penetrazione dalle secrezioni delle ghiandole.

La degenerazione del tessuto dell'ospite avviene anche in prossimità della zona di penetrazione dell'oncosfera (Heath, 1971). Si presume quindi che le secrezioni delle ghiandole di penetrazione debba aiutare il processo di penetrazione causando la lisi del tessuto dell'ospite. I fattori che determinano la localizzazione finale del

metacestode di *Echinococcus* in un determinato ospite non sono chiari ma probabilmente includono caratteristiche anatomiche e fisiologiche dell'opiste, nonché della specie e del ceppo specifici del parassita. Heath (1971) con i suoi studi ha fornito evidenze importanti in merito alla capacità dell'oncosfera di *E. granulosus* di completare la propria migrazione attraverso il circolo linfatico o venoso. Ha ulteriormente ipotizzato che i capillari linfatici dei villi differivano nelle dimensioni tra i diversi ospiti: la dimensione dell'oncosfera, in rapporto al calibro delle venule/capillari linfatici nei vari animali, potrebbe determinare la localizzazione delle cisti nel fegato e nei polmoni (Heath, 1971).

Una volta che l'oncosfera raggiunge il sito preferito, lo sviluppo procede con la formazione del metacestode. L'oncosfera di *Echinococcus* subisce rapidamente una serie di eventi di riorganizzazione durante i primi 14 giorni che coinvolgono la proliferazione cellulare, la degenerazione degli uncini dell'oncosfera, l'atrofia muscolare, la vescicolazione e la formazione di una cavità centrale con lo sviluppo di strati lamellari e germinali interni attorno ai quali origina una capsula di tessuto fibroso (Figura 10) (Heath e Lawrence, 1976).

Il metacestode o idatide o cisti idatidea (dal greco ἰδαίτης: acqua) è la forma larvale polisomatica di *E. granulosus*. La cisti è già visibile dopo tre settimane dall'impianto dell'embrione esacanto nell'organo bersaglio dell'ospite intermedio.

Nella parete della cisti si distinguono, dall'esterno verso l'interno, il pericistio o avventizia e la membrana elmintica. L'avventizia è uno di tessuto fibroso, costituito da cellule mononucleate, eosinofili, cellule giganti, cellule endoteliali e fibroblasti, ed è prodotta dall'ospite intermedio, come reazione di difesa nei confronti del parassita.

La membrana elmintica è a sua volta composta da due strati: uno strato germinativo o membrana prolifera, interno e sottilissimo (12-15µm), ricco di cellule ed uno strato cuticolare o membrana chitinoso, di spessore variabile, a lamelle concentriche (Bortoletti e Ferretti, 1973; Bortoletti e Ferretti, 1978; Lascano et al., 1975; Morseth, 1967). Nello strato germinativo si differenziano cellule che generano la sostanza chitinoso e cellule che determinano la fertilità dell'idatide. Esistono, infatti, idatidi fertili e sterili. L'idatide fertile è caratterizzata dalla presenza di capsule o cisti prolifere o cisti nido che contengono una sottilissima membrana con all'interno un minimo di 6 fino ad un massimo di 30 protoscolici. Le cisti nido sono biancastre, grandi come un granello di sabbia e aderiscono, con un sottile peduncolo, alla membrana germinativa

rendendola granulosa, o in altra maniera, se ne distaccano rimanendo libere nel liquido cistico. Anche i protoscolici si possono rendere liberi, raccogliendosi sul fondo della cisti madre, formando la cosiddetta sabbia idatidea (Schantz, 1982; Thompson, 2001).

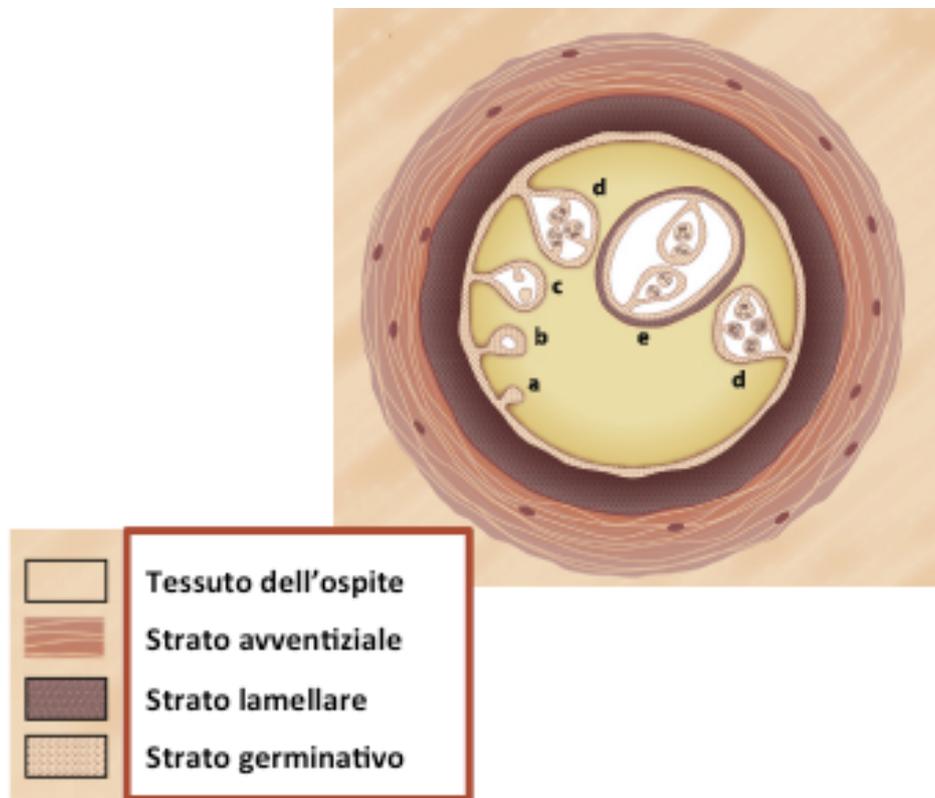


Figura 10 – Struttura del metacestode di *Echinococcus granulosus* - a-d stadi di sviluppo di protoscolici e capsule proligere, e cisti figlie (Fonte: Thompson e Jenkins, 2014).

Quindi all'interno della cisti sono presenti:

- liquido idatideo, limpido come acqua, ricco di cloruro di sodio, non coagulabile;
- capsule proligere, costituite da vescicole (250-500 μm) della struttura della membrana proligera ed entro cui si sviluppano 10-30 protoscolici invaginati, riuniti a grappolo; le capsule proligere sono munite di peduncolo e nascono per gemmazione dallo strato germinativo della cisti;
- protoscolici, contenuti nelle capsule proligere o distaccatisi da quelle e perciò liberi, invaginati o evaginati; da protoscolici disfattisi derivano granuli calcarei ed uncini che, sedimentando nel fondo della cisti insieme con protoscolici e

capsule proligere distaccatesi, vengono a formare nel loro complesso la cosiddetta sabbia idatidea;

- cisti figlie endogene, elementi non sempre presenti, derivate da protoscolici distaccatesi ed in evoluzione cistica;
- cisti figlie esogene, derivate forse per inclusione di isole della membrana germinativa tra le lamine della cuticola e successiva evoluzione verso l'esterno della cisti madre, possono essere talvolta presenti al di fuori della cisti e nelle sue immediate vicinanze.

Alcune volte all'interno della cisti non si ha la formazione degli elementi gemmanti, in relazione probabilmente a reazione immunitarie dell'ospite: in tali casi si parla di acefalocisti o cisti sterili. Quando si ha la formazione invece degli elementi gemmanti, la cisti è detta fertile.

E. granulosus produce normalmente una cisti uniloculare a singolo compartimento in cui la crescita è espansiva e concentrica. Più raramente possono verificarsi ripiegamenti delle pareti della cisti dando vita a camere secondarie comunicanti con la cavità centrale che prendono il nome di cisti figlie (Vanek, 1980). Altre volte la cavità centrale può essere parzialmente separata dalle camere secondarie da setti incompleti. Occasionalmente le cisti possono essere confinanti e saldarsi formando gruppi o raggruppamenti di piccole dimensioni di cisti di diversa dimensione. In alcuni ospiti, in particolare nell'uomo, dove non è insolito lo sviluppo di cisti di grandi dimensioni, le cisti figlie possono formarsi all'interno della cisti primaria (Figura 10) (Moro e Schantz, 2009; Thompson, 2001).

Le cisti di *E. granulosus* aumentano di diametro di 1-5 cm all'anno, i fattori che determinano questa differente crescita non sono ancora noti. La loro vita può avere una durata che raggiunge anche i 16 anni nei cavalli (Roneus et al., 1982) e 53 anni nell'uomo (Spruance, 1974). Le capsule proligere si ingrandiscono, vescicolano e diventano peduncolate. All'interno del loro lume si ripete il processo di germinazione asessuata, che porta alla produzione di numerosi protoscolici. La formazione dei protoscolici è asincrona: diverse fasi di sviluppo sono presenti allo stesso tempo nella stessa capsula proliigera (Thompson, 1995).

Il metacestode ha una capacità generativa sequenziale potenzialmente illimitata (Whitfield e Evans, 1983). Sebbene alcune cellule germinali iniziano la produzione di nuove capsule proligere e protoscolici, un pool di cellule germinali non impegnate e

indifferenziate rimangono. Questo fatto rende possibile lo sviluppo indefinito di *Echinococcus* nella forma larvale, così come mostrato da studi su roditori, mediante ripetuto passaggio intraperitoneale di protoscolici o di materiali derivati da strati germinali (idatidosi secondaria), ovvero lo sviluppo in umani e altri animali di cisti secondarie dopo la rottura di una cisti primaria. Così le cellule indifferenziate, conservate nello strato germinale, e il protoscolice sono in grado di avviare nuovi cicli di riproduzione asessuata. Il vantaggio della riproduzione agamica è quello di non dipendere dall'interazione di due individui, per questo è diffuso negli animali sessili o che si spostano molto lentamente e quindi restano spesso isolati.

Oltre ad essere in grado di avviare la produzione di nuovi protoscolici, un protoscolice possiede la doppia capacità (morfogenesi eterogenea) di sviluppare, se ingerito da un ospite definitivo adatto, un parassita adulto (Cucher et al., 2011; Thompson, 1995; Thompson, 2001). Però anche il verme adulto deve conservare alcune cellule germinali indifferenziate, dal momento che i parassiti adulti possono de-differenziarsi in una direzione cistica in condizioni sfavorevoli (Smyth, 1969)

3.5. Ciclo di vita di *Echinococcus*

La specie *Echinococcus*, come tutti i cestodi taeniidi, sfrutta i sistemi preda-predatore per il mantenimento dei cicli di vita. Gli ospiti definitivi sono esclusivamente carnivori, principalmente della famiglia dei cani (Canidae), in misura minore i gatti (Felidae) e le iene (Hyaenidae) (Figura 11).

Gli ospiti intermedi di *Echinococcus* spp. coprono una gamma molto più ampia. Infatti, considerando il grande numero di specie in cui i metacestodi possono svilupparsi, sembra che il parassita sia principalmente in grado di adattarsi a qualsiasi specie di preda dello specifico ospite definitivo, purché sia un mammifero.

Questa caratteristica generale del genere *Echinococcus*, tuttavia, è diversamente espressa quando si esamina il livello di specie. Qui troviamo differenze marcate nella specificità dell'ospite intermedio, che vanno, ad esempio, da *Echinococcus granulosus sensu stricto* (s.s), il cui metacestode può raggiungere la fertilità in una vasta gamma di ospiti, a *Echinococcus equinus*, i cui metacestodi sembrano (quasi) esclusivamente svilupparsi in membri della famiglia dei cavalli (Equidae). Emerge il grado di specificità dell'ospite intermedio ragionevolmente correlato alla potenziale capacità di infestare

gli esseri umani. Ad esempio *E. granulosus* s.s., che presenta bassa specificità, ha il più rilevante impatto sulla salute pubblica in termini di numero di casi e le cisti di tale specie possono crescere rapidamente, raggiungere grandi dimensioni e di solito produrre un cospicuo numero di protoscolici nei pazienti umani. Al contrario, gli esseri umani sembrano essere parzialmente o completamente refrattari all'infestazione con altri *Echinococcus* spp., una valutazione che si basa su un basso numero di casi, nonostante il parassita sia diffuso localmente in ospiti animali.

E. granulosus è trasmesso prevalentemente in cicli di vita domestici in cui sono coinvolti cani e bestiame (Figura 11), ha la più ampia distribuzione geografica tra tutte le specie di *Echinococcus* e, ha di gran lunga il più grande impatto sulla salute pubblica 88% di 1661 casi umani di EC in tutto il mondo (Alvarez et al., 2014). L'elevato numero di casi umani certamente riflette l'ampia distribuzione e l'alta frequenza dell'infestazione nei cani e nel bestiame, ma a quanto pare anche la bassa specificità d'ospite intermedio può contribuire alla maggiore infettività o patogenicità per gli esseri umani, se confrontato con altri *Echinococcus* spp. che causano EC.

I dati epidemiologici suggeriscono che questa specie sia particolarmente adatta a svilupparsi negli ovini quali ospiti intermedi, ciò si riflette in un'alta prevalenza di EC in questi animali (Cardona e Carmena, 2013; Deplazes et al., 2017) e alta fertilità delle cisti.

I dati riportati da 14 studi molecolari hanno mostrato una fertilità della cisti negli ovini che va dal 21-83% (Sud America), 37-67% (Africa), 50-100% (Asia) e 40-100% (Europa) (Cardona e Carmena, 2013).

Sia la prevalenza di casi che la fertilità delle cisti negli ovini è stata dimostrata strettamente correlata all'età: 80% di protoscolici erano presenti in ovini di 4 anni e più in Kyrgyzstan, sebbene questi animali rappresentassero solo il 28% degli ovini macellati (Torgerson et al., 2003; 2009).

Inoltre, quasi tutte le altre specie animali conosciute per lo sviluppo di cisti fertili di *E. granulosus s.s.* (caprini, bovini, yak, cammelli, alpaca, suini, asini) contribuiscono alla sua trasmissione ma sono di solito considerati meno importanti per il ciclo di vita a causa della minore prevalenza, fertilità della cisti o disponibilità per i canidi.

I dati pubblicati sulla prevalenza e sui tassi di fertilità sono divergenti. In alcuni studi (ma non in altri) i caprini sembrano essere meno frequentemente infestati rispetto agli ovini, e la fertilità della cisti valutata in nove studi va dallo 0% al 100% (Cardona e Carmena, 2013). Anche i bovini sono spesso infestati, la fertilità delle cisti osservata nella maggior parte degli studi è bassa (<20%), ma può raggiungere valori fino al 75% (Latif et al., 2010). Infestazioni frequenti di *E. granulosus s.s.* sono conosciute tra i suini in Europa, Asia e Sud America, con tassi di fertilità che variano dallo 0% al 100% (Cardona e Carmena, 2013; Mbaya et al., 2014; Sanchez et al., 2012; Tigre et al., 2016). La variabilità della prevalenza e della fertilità delle cisti tra i diversi studi rende difficile stimare il contributo quantitativo delle diverse specie di bestiame alla trasmissione di *E. granulosus s.s.* Le possibili ragioni includono (Romig et al., 2015; Thompson e McManus, 2001):

- ampia variabilità delle dimensioni del campione tra i vari studi,
- razze diverse di animali,
- mancanza di stratificazione per età nelle indagini di prevalenza del bestiame,
- selezione errata di cisti per l'esame molecolare per dimensione, posizione e condizione.

La trasmissione del parassita in ambito domestico coinvolge, quindi, tipicamente i cani come ospiti definitivi e il bestiame come ospite intermedio.

L'infestazione dei cani avviene a seguito di pasti abbondanti con frattaglie contaminate, spesso dopo la macellazione avvenuta in azienda (clandestina) e/o a seguito di una scorretta gestione dei capi macellati e dei mattatoi (dove i cani randagi hanno accesso a frattaglie contaminate) ovvero a causa di cani randagi o semirandagi che si cibano di carcasse di bestiame lasciate al pascolo. Tuttavia, ci sono numerosi report che descrivono come gli animali selvatici si inseriscano nel ciclo di vita del parassita come ospiti definitivi o intermedi, stabilendo in questo modo un ciclo secondario selvatico.

3.6. Metacestodi nell'ospite umano: aspetti clinici

Dopo che le uova vengono ingerite da un ospite intermedio, gli embrioni (oncosfere) si schiudono, penetrano nella parete intestinale, entrano nei vasi sanguigni o linfatici e migrano negli organi interni, dove si trasforma nello stadio larvale (metacestode) di *E. granulosus*. Nell'organo interessato si forma una cisti uniloculare che aumenta lentamente le sue dimensioni con un'espansione concentrica. La cisti così formata risulta costituita, come descritto precedentemente nella figura (Figura 10), da:

- tessuti derivanti dall'ospite - lo strato fibroso avventiziale spesso precedentemente chiamato il "pericistio";
- tessuti derivanti dal parassita costituiti dagli strati più interni composti da uno strato esterno cuticolare o lamellare (LL) acellulare e da uno strato germinativo sottile "sinciziale interno" strato (GL);
- contenuto liquido o fluido cistico "idatideo" che può contenere o meno protoscolici (Thompson, 2017)

La crescita della cisti è molto variabile. Infatti in un lavoro condotto da Romig et al. (1986) il tasso di crescita annuale delle cisti risultava essere: da nessun cambiamento fino a 130mm/anno (29mm in media). Lo stesso studio mostrava inoltre un'associazione con l'età: la crescita sembrava essere più veloce e maggiore nei pazienti più giovani, soprattutto nei bambini e negli adolescenti, e più lento negli anziani. Non esistevano differenze significative di genere (Romig et al., 1986).

I controlli a lungo termine di pazienti asintomatici ha mostrato che la maggior parte delle cisti del fegato, localizzazione più frequente, ha una crescita molto lenta e limitata. Lo studio sudamericano di Frider et al. (1999) mostra che, in più della metà delle cisti da EC, non c'erano cambiamenti nelle dimensioni durante un periodo di osservazione di 10-12 anni e un terzo delle cisti andava incontro ad una crescita lieve (<30mm). La crescita cistica media in tutti i 14 casi sottoposti a follow-up prolungato era di 7mm all'anno (Frider et al., 1999). In uno studio cinese, tra i pazienti con EC non sottoposti a trattamento, un caso su sei mostrava una cisti con risoluzione spontanea entro 4 anni (Wang et al., 2006). Cisti parzialmente o completamente calcificate non sembrano rare (Hosch et al., 2007).

Rogan et al. (2015) hanno descritto un modello per dividere le fasi di sviluppo della cisti in quattro step: (a) maturazione; (b) stabilità; (c) instabilità e (d) degenerazione. La

maturazione è una fase nella quale le cisti aumentano di dimensioni e producono progressivamente capsule proligere e protoscolici (cioè acquistano “fertilità”). Le cisti nella fase di stabilità presentano solo un lieve aumento delle loro dimensioni. La fase di instabilità è caratterizzata da cisti che vengono sottoposte ad “eventi stressanti” (ad esempio fissurazione o rottura dello strato germinativo che può manifestarsi con il distacco delle membrane dello strato germinativo). Questo può portare degenerazione, produzione di cisti figlie all’interno della cisti principale ovvero alla disseminazione dei protoscolici in altri organi/tessuti (Rogan et al., 2015).

La maggior parte dei pazienti (fino all’80%) ha un solo organo coinvolto e sviluppa cisti uniche, mentre la restante parte (20% dei casi) coinvolge sistemi multipli di organi (Grove et al., 1976).

Nell’EC primaria i metacestodi si sviluppano da oncosfere che si sono impiantate con successo nell’organismo/tessuto interessato. Al contrario, nell’EC secondaria il tessuto larvale si diffonde dal sito primario ad altre parti del corpo. L’EC secondaria si verifica spesso dopo rottura spontanea o indotta (ad esempio a seguito di traumi o durante il trattamento effettuato attraverso procedure invasive) con successivo rilascio di materiale parassitario vivo (protoscolici e/o cellule staminali parassitarie). Le cisti primarie o secondarie non differiscono morfologicamente.

Il ruolo delle specie nella localizzazione di sviluppo delle cisti non è chiaro. Una revisione sistematica della letteratura, su casi di EC umana, ha mostrato che i metacestodi di *E. granulosus* s.s. si sviluppano preferibilmente nel fegato (73,4%) e in secondo luogo nei polmoni (19,6%). Dopo un periodo di incubazione indefinito e variabile, EC può diventare sintomatica in seguito al fatto che le cisti attive esercitano pressione sul tessuto adiacente o inducono altri eventi patologici (Ammann e Eckert, 1996).

In un numero considerevole di pazienti l’EC viene diagnosticata accidentalmente, durante esami di diagnostica per immagine effettuati per altri motivi. In altre situazioni EC è diagnosticata in pazienti asintomatici, durante screening di popolazione in regioni endemiche (Romig et al., 1986; Larrieu et al., 2004; Moro et al., 2005; Del Carpio et al., 2012; Kilimcioglu et al., 2013). Tipicamente le cisti non inducono sintomi clinici finché non hanno raggiunto una dimensione tale da determinare compressione degli organi adiacenti. La diversità delle manifestazioni cliniche, invece, in caso di rottura della cisti, è legata alla loro localizzazione anatomica, la dimensione e il rilascio di materiale

antigenico responsabile di reazioni sistemiche di ipersensibilità. Si descrivono di seguito posizioni anatomiche delle cisti ed eventuali sintomi, sulla base dei dati di letteratura (Pawlowski et al., 2001; Budke et al., 2003).

- **Fegato:** il fegato è la localizzazione più frequente per lo sviluppo delle cisti (69-75%). Lo sviluppo della cisti è lento e di solito senza specifiche manifestazioni cliniche. Tuttavia possono verificarsi effetti compressivi, tossici o complicanze infettive (21%). In generale le manifestazioni cliniche associate alla localizzazione sono lievi e aspecifiche: i pazienti possono presentare dolori addominali, dispepsia, febbre o manifestazioni allergiche. La rottura all'interno dell'albero biliare è un evento comune (Zargar et al., 1992; Kornaros e Aboul-Nour, 1996). In questo caso si manifestano segni di colangite e/o ostruzione del canale biliare (Akhan et al., 1994).
- **Polmone:** i polmoni sono il secondo organo più comune di localizzazione delle cisti (17-22%). Cisti multiple si sviluppano in circa il 30% dei casi, in circa il 20% dei casi le cisti si localizzano bilateralmente e nel 60% dei casi le cisti si trovano nei lobi inferiori del polmone (Ramos et al., 2001). Le cisti intatte possono causare sintomi non specifici quali dolore toracico, tosse cronica ed emottisi (Santivanez, 2010). La compressione di una cisti nei bronchi può provocare atelectasia o reazioni infiammatorie.
- **La milza:** le cisti della milza (1-3%) sono accompagnate da cisti epatiche o peritoneali nel 30% dei casi. La crescita della cisti splenica è insidiosa, infatti può raggiungere dimensioni giganti o andare incontro a rottura nella cavità peritoneale prima di essere trattata. Spesso la localizzazione splenica non è accompagnata da sintomi, tuttavia, i pazienti possono segnalare fastidio nella regione dell'ipocondrio sinistro (Akhan et al., 2007).
- **Peritoneo:** EC peritoneale è un fenomeno raro e di solito è il risultato di una rottura di una cisti epatica nell'85% dei casi ovvero è secondaria ad interventi di chirurgia addominale (Karavias et al., 1996). Le manifestazioni cliniche possono essere associate ad infiammazione o a shock anafilattico, è presente addome acuto che richiede un intervento chirurgico immediato (Vaizey et al., 1994).
- **Reni:** Le cisti renali (1-4%) normalmente si verificano come infestazione primaria, con cisti localizzate in entrambi i reni. Le manifestazioni cliniche più frequenti sono dolore o presenza di una "massa" nella regione lombare.

Tuttavia l'ematuria e la pielonefrite con febbre sono stati segnalati in pazienti con tali localizzazioni (Zmerli et al., 2001).

- Osso: l'EC con localizzazione ossea è rara (<1%). Le cisti possono essere localizzate nella colonna vertebrale (50%), ossa lunghe, bacino e raramente nel cranio, coste, sterno o scapola. La posizione vertebrale è la più grave e può causare complicanze neurologiche dovute alla compressione sul midollo spinale. Le cisti, in questa posizione, hanno una mortalità superiore al 50% (Zlitni et al., 2001). Le manifestazioni più frequenti associate all'infestazione delle ossa lunghe sono fratture patologiche o formazione di fistole.
- Cervello e midollo spinale: le cisti echinococciche possono svilupparsi nel cervello (<1%). Le idatidi sono solitamente solitarie, di dimensioni tra 5-10cm di diametro e si trovano nelle regioni frontali o occipitali nel 65% dei casi. I sintomi dipendono dalla posizione della cisti e in genere si sviluppano lentamente.
- Cuore: Le cisti raramente si sviluppano nel cuore (1%), interessando prevalentemente la parete ventricolare (Birincioglu et al., 2013). I pazienti possono presentarsi con dolore toracico, dispnea e palpitazioni. Nel caso di cisti localizzate al lato destro del cuore, la complicanza più seria può essere la rottura intracardiaca con conseguente embolia polmonare.

Altri siti rari in cui le cisti sono state osservate includono muscoli (2%) (Akhan et al., 2007), ovaie (<1%), pancreas (0,2%) (Nabi-Yatoo et al., 1999), la ghiandola surrenale, la tiroide, le ghiandole salivari e l'orbita oculare (Akhan et al., 2011; Akhan et al., 1998).

3.7. Diagnosi dell'echinococcosi cistica: tecniche di diagnostica per immagini

Diverse sono le modalità utilizzate per la diagnostica per immagini tra cui: ecografia o ultrasonografia (US), tomografia computerizzata (TC), risonanza magnetica nucleare (RMN) e radiografia convenzionale (RX) (Polat, 2003). Queste tecniche sono utilizzate per la classificazione, la stadiazione, l'individuazione delle possibili complicanze e il monitoraggio della risposta al trattamento.

3.7.5. *Ecografia o ultrasonografia*

La classificazione dei diversi aspetti morfologici delle cisti di EC si basa sull'uso dell'ecografia (US), attraverso le caratteristiche morfologiche descritte a seguito di scansioni epatiche. Quando l'US divenne per la prima volta diffusamente disponibile, Gharbi et al. (1981) venne proposta una classificazione delle cisti epatiche che le divideva in cinque gruppi: tipo I (raccolta liquida pura), tipo II (raccolta di fluido con parete divisa), tipo III (raccolta di fluido con setti), tipo IV (cisti con ecogenicità eterogenea) e tipo V (cisti con pareti spesse). (Gharbi et al., 1981). Negli anni che seguirono sono state proposte numerose modifiche di questa classificazione.

Nel 1995 il WHO-*Informal Working Group on Echinococcosis (IWGE)* ha avuto il compito di valutare gli schemi di classificazione esistenti, nel 2001 è stato raggiunto un accordo ma, solo nel 2003, sono stati pubblicati i dettagli sulla classificazione concordata (WHO, 2003). Negli anni successivi sono state proposte modifiche e variazioni della classificazione e nel 2010 è stata proposta la classificazione elaborata e descritta da Brunetti et al. (2010) (Brunetti et al., 2010). Purtroppo, l'adozione della classificazione ecografica standardizzata è raramente adottata.

I seguenti stadi sono basati sulla classificazione del WHO-IWGE ([Figura 12](#)).

Stadio attivo CE1. In questa fase iniziale l'EC può manifestarsi con una cisti anecogena ben definita (stadio attivo CE1). La parete della cisti è di solito descritta come una doppia linea ecogena separata da uno strato ipoecogeno chiamato "segno del doppio contorno". È possibile visualizzare la presenza di sabbia idatidea che può essere rilevata all'interno della lesione con il tipico segno della "tempesta di neve".

Stadio attivo CE2. Queste cisti multi-settate si manifestano come fluido ben definito raccolto in una immagine a "a nido d'ape", con più setti che rappresentano le pareti delle vescicole parassitarie che appaiono come "cisti dentro una cisti" e sono comunemente indicati come "cisti figlia".

Fase transitoria CE3. Queste cisti hanno più setti interni, cisti figlie visualizzate come aree ecogene multiple e membrane galleggianti all'interno della cavità cistica. Questo quadro ecografico può essere conseguente ad una diminuzione della pressione intracistica dovuta a degenerazione della cisti, trauma, risposta di difesa dell'ospite, risposta alla terapia, tutte condizioni che possono portare al distacco del parassita dallo strato avventiziale derivante dall'ospite.

Fase transitoria CE3a. Queste cisti possono apparire come una raccolta ben definita di fluido, con una divisione localizzata nella parete e strati fluttuanti all'interno della cavità cistica. Il completo distacco delle membrane nella cavità cistica è chiamato come il "segno della ninfea" all'US.

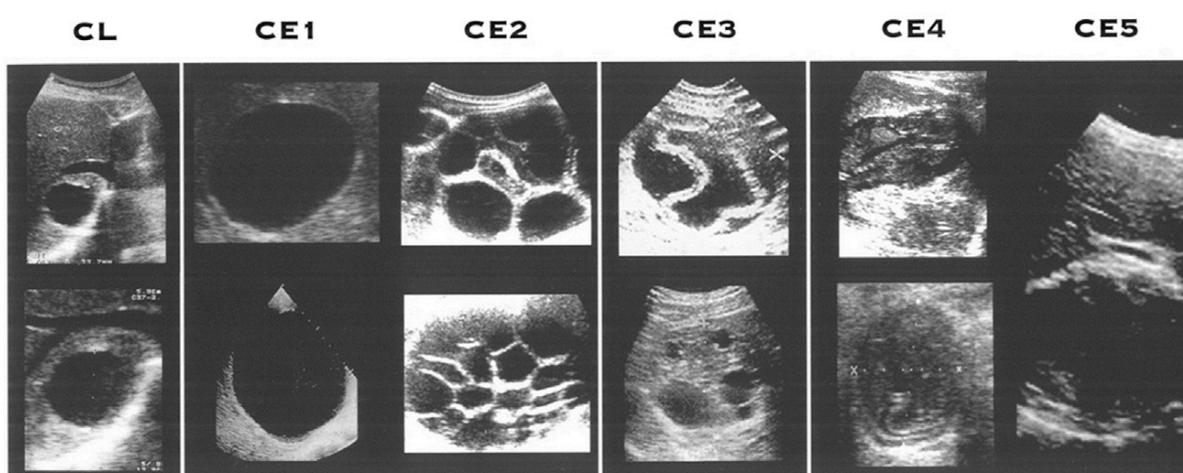


Figura 12 – Classificazione e stadiazione delle immagini US delle cisti di EC - WHO - Informal Working Group on Echinococcosis standardized classification (Fonte: Brunetti et al., 2010).

Stadio di transizione CE3b. In questa fase le cisti figlie sono separate dalla matrice echinococcica (un materiale con ecogenicità mista) e si osserva un'immagine che ricorda i "raggi di una ruota" di bicicletta. La matrice rappresenta i liquidi dell'echinococco che contengono membrane di vescicole spezzate, capsule proligere, protoscolici e "sabbia idatidea". Le membrane possono apparire all'interno della matrice come strutture lineari "a serpentina": un segno altamente specifico per la diagnosi di EC. La presenza di cisti figlie indica la vitalità dello strato germinativo.

Stadio inattivo CE4. In questa fase la matrice riempie completamente le cisti creando un pattern ecogeno misto che imita una massa solida. Questo aspetto è chiamato come "segno del rotolo di lana". Poiché la differenziazione di questo tipo di cisti da altre masse epatiche solide o ascessi è spesso difficile, è importante cercare all'interno della lesione le membrane che possono supportare una corretta diagnosi. L'approfondimento diagnostico in questa fase è possibile attraverso una TC o RMN con contrasto.

Stadio inattivo CE5. In questa fase si verifica la calcificazione della parete cistica. Si può anche vedere la calcificazione della matrice interna. Queste cisti presentano un contorno iperecogeno, con ombra a forma di cono. Quando la parete della cisti è molto calcificata solo la porzione anteriore della parete viene visualizzata e appare come un arco spesso con una concavità posteriore, importante segno per la diagnosi di stadio inattivo CE5. La calcificazione parziale della cisti non sempre indicare la morte del parassita. La TC e la RMN possono aiutare nella valutazione di cisti molto calcificate.

3.7.6. Tomografia computerizzata

TC è in realtà il metodo di scelta per studiare la diffusione extraepatica delle cisti perché consente l'*imaging* di tutto l'addome, il bacino e il torace (Figura 13). (Oto et al., 1999).



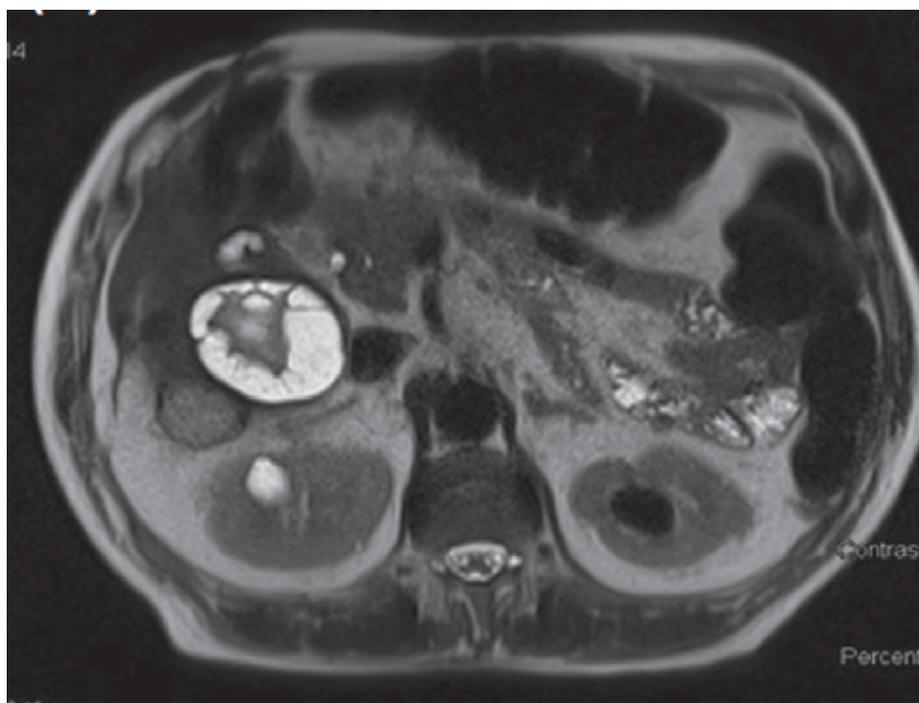
Figura 13 – Porzione superiore dell'addome realizzata con tomografia assiale computerizzata: lesioni cistiche multiple in entrambi i lobi epatici (Fonte: Kern et al., 2017).

È una tecnica comunemente usata nei pazienti obesi e in coloro che hanno avuto precedenti interventi chirurgici. L'uso del mezzo di contrasto consente di verificare la vascolarizzazione della lesione o un'eventuale comunicazione con l'albero biliare. La

calcificazione della parete cistica può essere rilevata con la TC anche se la parete è completamente calcificata (cisti CE5 inattive). Tuttavia, la TC ha la limitata capacità di valutare i setti interni, le membrane fluttuanti e le cisti figlie.

3.7.7. Risonanza magnetica nucleare

La RMN consente la visualizzazione delle cisti in piani multipli (Figura 14).



1. **Figura 14** – Immagine di risonanza magnetica nucleare applicata alla parte superiore dell'addome – WHO-IWGE cistic CE 3b: cisti figlie e componente fluida sono iperintense in contrasto con la matrice idatidea che appare ipointensa in localizzazione centrale (Fonte: Kern et al., 2017).

È la migliore modalità di diagnostica per immagini che consente di rilevare il coinvolgimento dell'albero biliare. Se l'ecografia non può essere eseguita, a causa della localizzazione della cisti o per motivi specifici legati ai pazienti, la RMN è spesso preferita alla TC, tranne quando si deve valutare la presenza delle calcificazioni (Stojkovic et al., 2012).

La RMN è la migliore tecnica diagnostica per valutare le membrane fluttuanti e il distacco della parete ed è utile per differenziare cisti puramente liquide (CE1 attivo) da lesioni cistiche benigne del fegato (Oruc et al., 2010).

3.7.8. Diagnostica per immagini in caso di EC polmonare

In caso di formazioni cistiche da EC nel polmone, la radiografia del torace e la TC sono le più importanti modalità di diagnostica per immagini. Cisti non complicate sono visualizzate come masse rotonde o ovali con confini ben definiti. Le cisti complicate possono essere diagnosticate da segni patognomonici comunemente accettati. Grandi cisti possono spostare il mediastino, indurre una reazione pleurica o causare atelectasia del parenchima adiacente. Anche la RMN può essere utile per valutare i cambiamenti reattivi del tessuto dell'ospite, in corso di infestazione.

3.8. Diagnosi di echinococcosi cistica: tecniche sierologiche

Sebbene le tecniche di diagnostica per immagini siano estremamente importanti per la diagnosi di EC, tuttavia tali tecniche non sono sempre risolutive poiché le cisti a volte possono presentare un aspetto atipico che non permette di differenziarle da ascessi o tumori, in questi casi sono richieste metodiche sierologiche (Siracusano e Bruschi, 2006). L'EC è una delle poche malattie parassitarie la cui diagnosi biologica si basa sull'esame sierologico invece che sull'isolamento del parassita (diagnostica indiretta). Inoltre il rilevamento degli antigeni circolanti non sembra essere utile a scopi diagnostici (McManus et al., 2003).

La valutazione sierologica tipicamente segue un approccio a due fasi (Siles-Lucas e Gottstein, 2001).

Nella prima fase vengono utilizzati test diagnostici sensibili, ad esempio, prova di emoagglutinazione indiretta (Indirect Haemagglutination test - IHA) oppure test immunoenzimatico (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay - ELISA), usando antigeni di *E. granulosus*. Questi test mancano di specificità e possono dare false positività a causa di reazioni crociate con altre infestazioni elmintiche o in presenza di tumori gastrointestinali.

Nella seconda fase viene utilizzato un test altamente specifico per confermare i risultati dei test di screening. Molti fattori possono influenzare i risultati dei test: l'età e la fase di sviluppo della cisti, se la cisti è intatta o meno e se sono presenti o meno cisti extraepatiche. Altro fattore che può condizionare i risultati è la diffusione dell'infestazione: i bambini provenienti da aree ad alta endemia per EC possono risultare sieropositivi anche in assenza di cisti rilevabili (Yang et al., 2008).

I metodi sierologici più diffusi e utilizzati sono principalmente basati sulla ricerca di anticorpi contro estratti crudi del parassita (fluido idatidico: FI). Il liquido cistico costituito da glico-lipoproteine, carboidrati e sali è la principale fonte antigenica per lo sviluppo di test sierologici (Zhang e McManus, 2006). In particolare le lipoproteine, l'antigene B (AgB) e l'antigene 5 (Ag5) sono i maggiori componenti del liquido cistico e vengono largamente utilizzati per l'immunodiagnosi dell'EC (Poretti et al., 1999). Il limite dell'utilizzo di FI quale fonte antigenica è costituita dal fatto che tali antigeni hanno bassa specificità e cross-reagiscono determinando risultati falsi-positivi in presenza di un ampio numero di patologie, anche di natura parassitaria. In aggiunta, una percentuale variabile di pazienti rimane sierologicamente negativo contro FI, nonostante sia affetto da EC, molto probabilmente a causa dello stadio di sviluppo, del numero e della grandezza della cisti e a causa di ulteriori caratteristiche del paziente.

Negli ultimi anni, a scopo diagnostico, sono state prodotte proteine ricombinanti e nuovi peptidi diagnostici al fine di aumentare la sensibilità e specificità dei test sierologici (Zhang e McManus, 2003). Tuttavia l'uso dei componenti ricombinanti ha portato in qualche caso ad un abbassamento della sensibilità diagnostica (Carmena et al., 2006).

Molti casi di EC rimangono asintomatici per anni e la loro diagnosi è ancora una sfida da superare a causa all'assenza di segni patognomnici da poter ricercare. Per questa ragione queste patologie sono frequentemente sotto diagnosticate, scoperte solo quando si verificano e si manifestano complicanze o in corso di esami di diagnostica per immagini effettuati per altri motivi. Inoltre, in presenza di casi di EC diagnosticati con l'utilizzo della ultrasonografia, in una popolazione sottoposta a screening i test sierologici hanno mostrato di essere di utilità scarsa o nulla, mostrando un'alta percentuale di falsi negativi (scarsa correlazione tra diagnostica per immagini e sierologia) e falsi positivi.

Ulteriore limite nell'applicazione dei test sierologici è dovuto al loro utilizzo nella gestione clinica di pazienti con EC (ad es. trattamento chirurgico, percutaneo o farmacologico). Il trattamento terapeutico del paziente con EC è stato spesso associato con rischio di recidive, da qui l'importanza del *follow up* dopo terapia. La valutazione degli anticorpi utilizzata per il *follow up* dei pazienti in trattamento ha mostrato una risposta umorale contro FI che persiste per un lungo periodo di tempo dopo le cure.

Le cisti di *E. granulosus* inducono una abbondante risposta anticorpale in molti pazienti, stimolando la produzione di differenti isotipi di immunoglobuline (IgG, IgM, IgA e IgE), sebbene l'intensità e la specificità della risposta dipendano da numerosi fattori. I primi anticorpi che appaiono dopo poche settimane dall'infestazione sono quelli prodotti contro gli antigeni dell'oncosfera, successivamente vengono prodotti contro lo strato lamellare e, ancora più tardi, contro il fluido cistico e i protoscolici, se presenti.

I metodi sierologici più utilizzati per la diagnosi e il *follow up* di EC umana sono basati su tecniche quali:

1. dosaggio immuno-assorbente legato a un enzima (Enzyme-Linked Immuno Assay) o ELISA;
2. test di inibizione dell'emoagglutinazione (Hemagglutination assay) o IHA;
3. western blot o immunofissazione (immunoblot) o IB.

Test come la reazione di Casoni, iniezione intradermica di determinanti antigeniche di *E. granulosus*, hanno ormai solo un valore storico e non sono più utilizzati. Anche la tecnica dell'immunoprecipitazione risulta ormai un test definito inusuale.

Sia l'ELISA che l'IHA sono usualmente il test di prima scelta per pazienti con EC, mentre IB è usato come test di conferma. I test di prima scelta presentano un certo numero di svantaggi quali: la bassa sensibilità e specificità e il ridotto valore prognostico per il *follow up* dei pazienti in trattamento, a causa della lunga persistenza di anticorpi contro FI (Barnes et al., 2012). In questi casi sembra siano migliori marcatori le IgE e le IgM (in particolare dopo chemioterapia e dopo terapia chirurgica) (Zarzosa et al., 1999).

Un largo numero di studi, che hanno utilizzato il test ELISA per la ricerca di IgG prodotte contro l'antigene FI per la diagnosi di EC, hanno riportato una sensibilità variabile del test compresa tra il 64,8% al 100% (Zhang e McManus, 2006; Carmena et al., 2006; Sarkari e Rezaei, 2015; Manzano-Román et al., 2015).

I risultati falsi negativi dipendono da numerosi fattori descritti da differenti autori (Manzano-Román et al., 2015; Lissandrin et al., 2016): uno stadio troppo precoce della cisti per essere rilevato (CE1) ovvero la sua inattività (CE4 e CE5) (Schweiger et al., 2012; Wang et al., 2013; Tamarozzi et al., 2013), la localizzazione della/e cisti in organi diversi rispetto al fegato (Akisu et al., 2006; Kilimcioğlu et al., 2013), la presenza di cisti singole e piccole (Hernández-González et al., 2012), la variabilità della miscela

antigenica (FI) (Rahimi et al., 2011). A questi va aggiunto, tra i possibili fattori responsabili di una falsa negatività del test, il genotipo del parassita: i genotipi G1 e G2 provenienti dall'Europa mostrano differenze rispetto a quelli provenienti dalla Cina poiché contengono più elevate quantità di antigene B2 in FI (Jiang et al., 2012a; Jiang et al., 2012b). Altre variabilità antigeniche dipendono dallo stadio di sviluppo della cisti. Come mostrano alcuni recenti studi lo stadio CE1 e CE2 differiscono nell'espressione dei loro antigeni immuno-dominanti (antigene B e antigene 5) (Ahn CS et al., 2015).

Un secondo problema nell'applicazione di questi test è la percentuale dei risultati falsi positivi. Il test ELISA (ricerca di IgG) mostra un numero variabile di falsi positivi in donatori sani provenienti da diverse aree geografiche (es. specificità del 53,8% in donatori iraniani, del 87,5% in donatori indiani e 100,0% in donatori italiani) (Mohammadzadeh et al., 2012; Zhang et al., 2012; Tamarozzi et al., 2013). Altro motivo che giustifica l'aumento dei risultati falsi positivi è la cross-reattività degli anticorpi prodotti contro antigeni del FI in pazienti affetti da patologie parassitarie e non, ad esempio: l'echinococcosi alveolare, la cisticercosi (Carmena et al., 2006; Manzano-Román et al., 2015), la clonorchiasi (Jin et al., 2013), la fasciolosi e la schistosomiasi (Tawfeek et al., 2011) l'ascariasi, l'amebiasi e le neoplasie (Chirag et al., 2014). Ulteriori studi saranno necessari per definire meglio l'estensione di tale cross-reattività.

Sebbene siano stati saggiati anche test sierologici preparati con derivati di protoscolici, estratti del parassita adulto, estratti del tegumento dei protoscolici o della parete della cisti, anche questi ultimi hanno mostrato gli stessi limiti dei test preparati con FI (Siles-Lucas et al., 2017).

Molti kit commerciali, principalmente basati su ELISA, IHA e immunocromatografia (ICT), contengono sia l'estratto crudo di FI che frazioni semipurificate di questa miscela antigenica e sono disponibili in commercio, sebbene non in tutti venga specificata la componente antigenica presente nello specifico test. Molti di questi kit sono stati validati con un numero limitato di sieri di pazienti di cui non erano conosciute tutte le caratteristiche cliniche. I risultati di validazioni estese e confronti con il *gold standard* è stato pubblicato solo per pochi di questi. Fra questi, molti test commerciali ELISA sono stati testati e confrontati con test *home-made* e hanno mostrato variabilità nel numero di falsi positivi e falsi negativi. Tra i test commerciali disponibili predisposti con la

tecnica dell'*immunoblotting*, da citare, è *Echinococcus Western Blot IgG* (LDBIO Diagnostics). Questo kit contiene l'intero estratto larvale del parassita (Siles-Lucas et al., 2017). Il risultato del test, che risulta comunque avere una migliore sensibilità rispetto ai test ELISA e IHA (Liance et al., 2000), si basa sull'analisi delle bande che a volte risulta difficile da interpretare.

Negli ultimi anni sono stati fatti numerosi tentativi per sviluppare strumenti diagnostici più sensibili e più facili da usare. Questi sono principalmente basati sull'immunocromatografia ovvero immunochromatographic assay (ICT) e dot immunogold filtration assay (DIGFA).

Il test ICT ha alcuni vantaggi rispetto ai test ELISA, Western Blot e IHA: poco tempo necessario per l'analisi, non necessita di personale specializzato per l'esecuzione ed è facile l'interpretazione e la lettura del risultato. Si tratta quindi di test generalmente più economici rispetto ad altre tecniche che non necessitano inoltre di un trasporto con refrigerazione. Anche per il test ICT la variabilità nell'uso degli antigeni per la produzione condiziona la sensibilità del risultato. Tale valore, in vari studi, risulta essere compreso tra il 78-96,8% (Wang et al., 2013; Santivañez et al., 2015; Tamer et al., 2015). La specificità del test invece è stata calcolata intorno al 90%.

DIGFA è stato recentemente utilizzato per la diagnosi di pazienti con EC. Questo test è caratterizzato dalla combinazione di più antigeni, il suo utilizzo ha mostrato una sensibilità di 80,7% e specificità del 93,4% (Feng et al., 2010). Ulteriori studi saranno necessari per valutare in maniera più appropriata l'applicazione di questi nuovi kit diagnostici.

Concludendo, i test ELISA o ICT più sensibili (contenenti HF o frazioni semipurificati) dovrebbero essere utilizzati come test di prima linea in laboratori di routine per la diagnosi di EC. In una seconda fase un test più specifico (ad es. antigeni ricombinanti o peptidi) dovrebbero essere utilizzati per confermare la diagnosi (Kern et al. 2017).

3.9. Criteri diagnostici di echinococcosi cistica

La diagnosi di EC è ottenuta mediante una combinazione di test sierologici e di tecniche di diagnostica per immagini, di solito in concomitanza con una storia di esposizione o di immigrazione da una zona endemica. Una diagnosi confermata di EC ([Tabella XII](#)) può essere ottenuta identificando uno dei segni patognomonic.

CRITERI CLINICI

- Una o più formazioni cistiche a lenta crescita o statica (segni e sintomi variano con la posizione della cisti, la dimensione, il tipo e il numero) diagnosticate attraverso tecniche di imaging;
- reazioni anafilattiche dovute a rotture o lesioni della/e cisti.
- individuazione incidentale di una cisti mediante tecniche di imaging in portatori asintomatici o rilevata durante programmi di screening.

CRITERI DIAGNOSTICI

- lesione/i d'organo tipiche rilevate mediante tecniche di imaging (ad es. US, tomografia computerizzata a scansione, radiografia, risonanza magnetica nucleare).
- presenza di anticorpi specifici valutati attraverso test sierologici ad alta sensibilità, confermata da un ulteriore test sierologico ad alta specificità.
- esame istopatologico o parassitologico compatibile con cisti da echinococco (ad esempio visualizzazione diretta di protoscolici o uncini nel liquido cistico).
- rilievo di cisti con morfologia macroscopica patognomonica di EC in campioni chirurgici.

DEFINIZIONE DI CASO

- **caso possibile** - qualsiasi paziente con anamnesi clinica o epidemiologica compatibile con EC che presenta risultati positivi per la parassitosi con le tecniche di imaging o con esami sierologici;
- **caso probabile** - qualsiasi paziente con positività anamnestica clinica ed epidemiologica che presenta risultati positivi per la parassitosi con le tecniche di imaging o con esami sierologici, utilizzando due test;
- **caso confermato** – caso probabile con (1) dimostrazione di protoscolici e/o loro componenti con l'utilizzo della microscopia diretta o della biologia molecolare nei contenuti della cisti aspirata attraverso puntura percutanea ovvero prelevati attraverso intervento chirurgico, o (2) cambiamenti nell'aspetto all'ultrasonografia (US) ad esempio: distacco dell'endocistio in una cisti CE1, con classificazione successiva allo stadio CE3a, ovvero solidificazione di un CE2 o CE3b, con classificazione successiva in CE4, dopo somministrazione di albendazolo (almeno 3 mesi) o spontanea.

Tabella XII – Criteri diagnostici di EC.

3.10. Gestione clinica e terapia

Il trattamento di EC mira a distruggere il metacestode e questo può essere ottenuto sterilizzando la cisti e rimuovendo l'intero fluido e i costituenti del parassita mediante aspirazione o con escissione chirurgica dell'intera cisti (Menezes, 2003; Junghanss et al., 2008).

La sterilizzazione della cisti può essere ottenuta utilizzando soluzioni che danneggiano gli scolici, come la soluzione salina ipertonica (30%) o l'alcool assoluto (95%), iniettati nella cisti e/o con farmaci orali come i benzimidazolici (BMZ), carbamati, ovvero albendazolo (ABZ) o mebendazolo (MBZ) (Teggi et al., 1993; Keshmiri et al., 2001). A questo fa seguito un processo involutivo durante il quale il parassita gradualmente muore lasciando una cisti spesso solida e calcificata o una cicatrice.

Per i pazienti con cisti epatiche complicate e/o addominali, quattro sono i principi fondamentali che si applicano: (1) trattamento farmacologico con BMZ; (2) tecniche di sterilizzazione percutanea; (3) chirurgia con minima invasività o generale e (4) watch-and-wait. Attualmente l'uso preferenziale dei diversi approcci terapeutici è evidenziato schematicamente in Figura (Figura 15).

Stadiazione e classificazione delle cisti						
CISTI INIZIALE	ATTIVA	TRANSIZIONALE		INATTIVA		
						
CL	CE1	CE2	CE3a	CE3b	CE4	CE5
Approccio terapeutico						
Watch & Wait	BMZ (alta efficacia) e PAIR	Tecniche chirurgiche di MoCAT	BMZ (alta efficacia) e PAIR	Tecniche chirurgiche di MoCAT	Watch & Wait	

Figura 15 – Fase di sviluppo delle cisti e relativo trattamento (classificazione ecografica WHO-IWGE e 'Gharbi' delle cisti epatiche) BMZ, carbammati benzimidazolici; MoCAT, tecnica di cateterizzazione modificata; PAIR (puntura-aspirazione-iniezione-riaspirazione) (Fonte: Kern et al., 2017).

3.10.1. *Trattamento delle cisti addominali*

MBZ è stato il primo BMZ utilizzato contro EC (Schantz et al., 1982). Attualmente ABZ è il farmaco di scelta per il trattamento della parassitosi, poiché la sua biodisponibilità è migliore di quella di altri agenti antielmintici che sono stati utilizzati in passato. Per il trattamento di EC il farmaco è tipicamente somministrato ad una dose giornaliera totale di 10-15mg/kg/giorno (Horton, 1997). In alternativa, MBZ può essere utilizzato ad una dose giornaliera totale di 40-50mg/kg di peso corporeo. La durata del trattamento dipende dalle condizioni individuali, dalla fase di sviluppo e dalla dimensione della cisti che è necessario monitorare attraverso le tecniche di diagnostica per immagini. Le raccomandazioni attuali suggeriscono di continuare il trattamento per diversi mesi. Gli effetti collaterali del farmaco sono l'epatotossicità e la mielotossicità. Viene infatti raccomandato il controllo degli enzimi epatici e l'esame emocromocitometrico ogni due settimane durante il primo mese di trattamento farmacologico. L'alopecia è un altro effetto collaterale riconosciuto nei pazienti con colestasi cronica e/o ipertensione portale (Brunetti et al., 2010). Le BMZ sono più efficaci sulle giovani cisti (ad esempio CE1), l'efficacia su cisti CE2 è inferiore al 50%. Questi farmaci da soli non sono efficaci contro cisti giganti (>10cm di diametro). Inoltre questa classe di farmaci è più efficace sulle cisti epatiche rispetto quelle con altre localizzazioni, presumibilmente perché i farmaci possono raggiungere una concentrazione più alta nel fegato rispetto ad altri sistemi organici (Stojkovic e Junghanss, 2013). Un ulteriore utilizzo dei benzimidazoli è quello di essere associati alla terapia chirurgica o ad altre procedure interventistiche, soprattutto per prevenire l'EC secondaria (Brunetti et al., 2010).

Tra le tecniche interventistiche devono essere menzionate le tecniche di inattivazione del parassita: si ottiene mediante la sterilizzazione del contenuto delle cisti utilizzando una soluzione scolocida iniettata nella cavità cistica (rivista da Tamarozzi et al., 2014). Dopo l'iniezione i contenuti liquidi della cisti insieme alle membrane del parassita vengono rimossi. In questo modo, il metacestode vitale viene verosimilmente distrutto. Tutti questi interventi vengono eseguiti attraverso un ingresso percutaneo. Ci sono tre tecniche previste per il trattamento percutaneo delle cisti CE: (1) puntura della cisti, aspirazione del contenuto, iniezione di soluzione salina ipertonica o a base di alcool e riaspirazione del fluido, noto come "PAIR" (2) la tecnica standard di

cateterizzazione e (3) la tecnica di cateterizzazione modificata (MoCAT). Le tecniche (1) e (2) sterilizzano la cisti usando agenti chimici e vengono quindi generalmente accompagnate dal trattamento con BMZ. La tecnica (3) differisce dalle altre in quanto, oltre alle procedure di sterilizzazione, sia il parassita che le membrane vengono rimosse.

Altra modalità terapeutica proposta è quella chirurgica che ha come obiettivo, nel trattamento della EC, quello di rimuovere la cisti (Sayek e Onat, 2001; Buttenschoen e Carli Buttenschoen, 2003; Yagci et al, 2005). La cistectomia idealmente dovrebbe essere totale per diminuire le recidive e le complicanze. Può essere eseguita attraverso laparotomia o laparoscopia. In entrambi i casi viene eseguita la dissezione all'esterno dell'avventizia (pericistio) per garantire la rimozione completa della cisti. Se una cistectomia totale non è possibile, a causa di possibili danni alle strutture vascolari, viene eseguita una cistectomia parziale per ottenere la rimozione del parassita. Entrambi i metodi hanno rischi più elevati nella fase perioperatoria ma minori possibilità di complicanze e recidive. La chirurgia è inoltre il trattamento di scelta nei pazienti con cisti complicate (ad esempio, rottura, sviluppo di un cisti biliari, fistola, compressione di organi e vasi vitali, emorragie, superinfezione batterica, cisti giganti).

3.10.2. Approccio "watch-and-wait"

Il follow-up a lungo termine dei pazienti è un'opzione da mettere in atto in particolare in caso di cisti inattive non complicate, tra cui la maggior parte delle cisti allo stadio CE4 e di tutte le cisti classificate come CE5. Questi tipi di cisti sembrano rimanere stabili o degenerare nel tempo e non compromettono le funzioni d'organo o causano disagio del paziente. Questi pazienti dovrebbero essere sottoposti ad un *follow-up* a lungo termine con ecografie ripetute per almeno 10 anni (Junghanss et al., 2008). L'approccio watch-and-wait può anche essere adatto ad altri tipi di cisti (ad esempio piccole cisti CE1). Tuttavia, ulteriori studi prospettici sono necessari per validare questo tipo di protocollo (Brunetti et al., 2009).

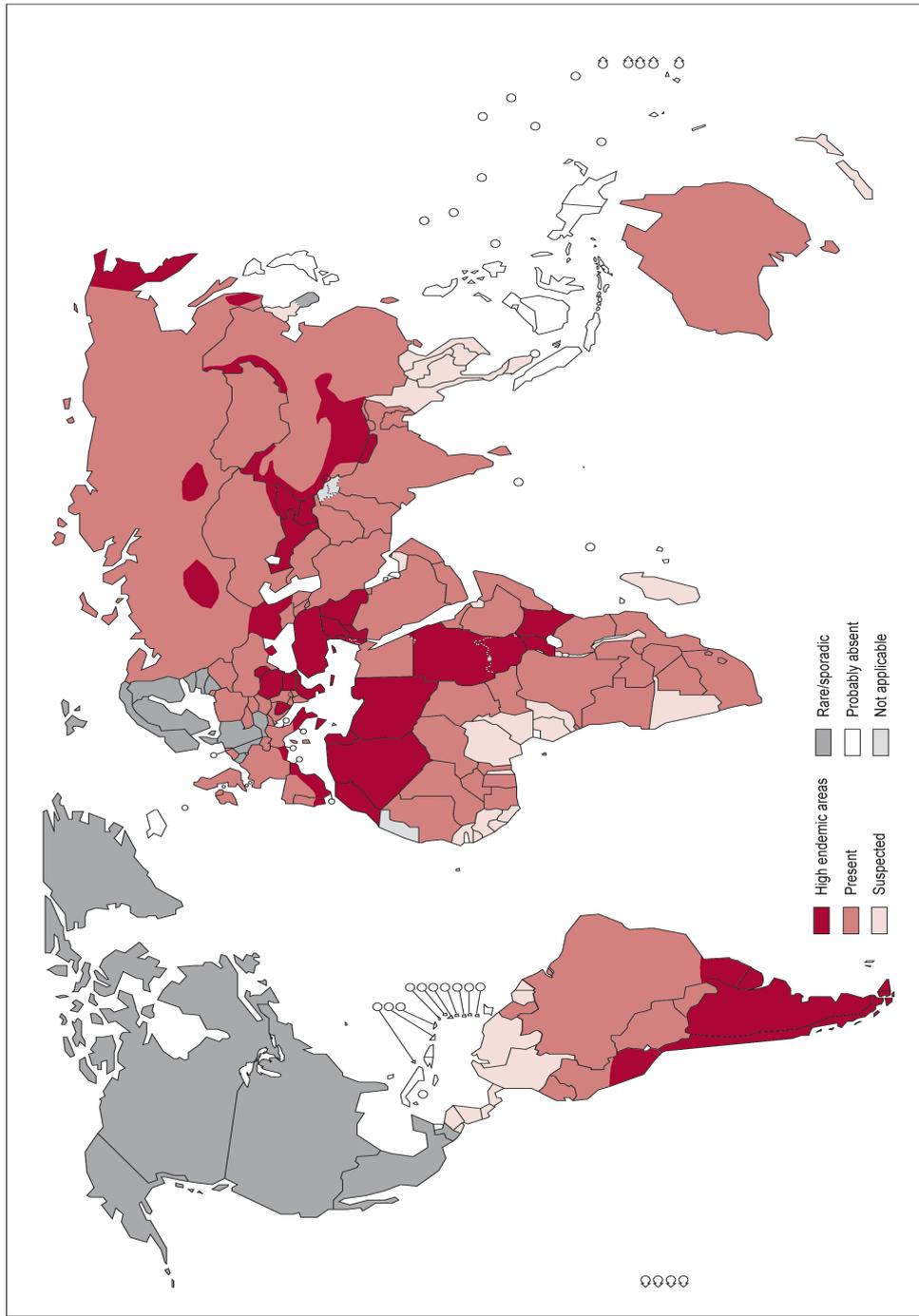
3.11. Distribuzione dell'echinococcosi cistica nel mondo

Le informazioni sulla distribuzione geografica del parassita, però, sono generalmente incomplete e la qualità dell'informazione varia da un paese all'altro. L'adattabilità di *Echinococcus granulosus* ad un'ampia varietà di specie ospite e le migrazioni degli animali domestici in tutto il mondo, hanno reso possibile l'attuale, ampia, distribuzione geografica del cestode. La patologia è per lo più endemica nelle zone rurali dove è maggiormente sviluppata la pastorizia: l'Asia centrale, la Cina, il Sud America e i Paesi del Mediterraneo. In questi Paesi i tassi di incidenza di EC possono raggiungere valori superiori al 50 per 100.000 persone/anno, livelli di prevalenza più alti del 5-10% possono verificarsi in alcune parti dell'Argentina, Perù, Africa orientale, Asia centrale Cina (Figura 16). Il tasso medio di morti post-operatorie sono del 2,2% e circa il 6,5% dei casi risultano recidivanti dopo l'intervento e richiedono un tempo di recupero prolungato (WHO, 2016). L'ultima stima del peso globale dell'EC è di 188.000 nuovi casi ogni anno con 184.000 DALYs (disability adjusted life years) ossia 0,98 DALY per ogni caso (Torgerson et al., 2010). Sebbene l'echinococcosi alveolare (EA) abbia un peso della malattia per l'uomo (37 DALY per ogni caso) molto più alto rispetto all'EC, questo dato è interamente causato dal basso tasso di mortalità del EC rispetto all'EA. Tuttavia è importante notare che il ciclo di vita del EC in molti paesi coinvolge come ospiti intermedi capi di bestiame, ciò può avere ripercussioni economiche e sanitarie ulteriori rispetto all'EA.

3.12. Distribuzione in Europa

EC è soggetta a sorveglianza secondo la legislazione europea, è presente nel programma di sorveglianza *Food and Waterborne Diseases and Zoonoses* (FWD), che è stato istituito nel 2006 dal *European Centre for Disease Control* (ECDC). I dati di EC nell'uomo (Decisione 2000/96/EC; del Parlamento Europeo e del Consiglio, 1999) e negli animali (Direttiva, 2003/99/EC; del Parlamento Europeo e del Consiglio, 2003) devono essere obbligatoriamente monitorati nell'Unione Europea.

Distribution of *Echinococcus granulosus* and cystic echinococcosis, worldwide, 2011



Data Source: World Health Organization
Map Production: Control of Neglected
Tropical Diseases (NTD)
World Health Organization

The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement. © WHO 2012. All rights reserved

Figura 16 – Distribuzione di *E. granulosus* e casi di echinococcosi cistica (Fonte: WHO, 2011).

Tutti gli Stati membri comunicano informazioni sullo sviluppo epidemiologico di EC umana al Sistema Europeo di Sorveglianza su base annua (Decisione 2119/98/EC; del Parlamento Europeo e del Consiglio, 1998; Decisione 2002/253/EC; del Parlamento Europeo e del Consiglio, 2002, 2007). I dati relativi ai casi di EC sono esaminati dall'ECDC, che, in collaborazione con l'*European Food Safety Authority* (EFSA) e l'assistenza del *Zoonoses Collaboration Centre*, produce annualmente il *Community Summary Report*.

3.12.1. Dati sugli animali

Echinococcus è stato notificato negli animali in 17 Stati membri (Austria, Belgio, Danimarca, Estonia, Finlandia, Germania, Grecia, Italia, Lettonia, Lituania, Paesi Bassi, Portogallo, Romania, Slovacchia, Slovenia, Spagna, Svezia) insieme a Islanda, Norvegia e Svizzera, non è stato invece notificato dalla Repubblica Ceca, Francia, Ungheria, Lussemburgo e Regno Unito (non sono state fornite informazioni dalla Bulgaria, Croazia, Cipro, Irlanda, Malta e Polonia).

Le linee guida per il controllo di *Echinococcus granulosus*, fornite dalla Direttiva del Consiglio 64/433/CE, prevedono l'ispezione visiva di tutti gli animali macellati. Tale ispezione deve essere eseguita da veterinari di organismi ufficiali che esaminano gli organi dell'animale. Nei casi in cui si evidenziano cisti da *Echinococcus* gli organi devono essere distrutti.

Il limite dei dati animali raccolti sta nel fatto che, nel caso in cui gli SM non specifichino la specie di *Echinococcus* (*Echinococcus* spp. o non specificata) in uno o in tutte le specie animali esaminate, l'EFSA assegna per ciascuno di questi casi la specie *E. multilocularis*, se è noto che *E. multilocularis* è diffuso negli Stati membri interessati; altrimenti viene assegnata la specie *E. granulosus sensu lato*.

In base ai dati ricevuti dagli stati membri sul report annuale dell'ECDC (dati 2015 – pubblicazione 2016) su un totale di 24 paesi (23 Stati membri e uno non-SM) sono stati riportati i dati provenienti dall'analisi di oltre 78 milioni di animali domestici e selvatici testati per *E. granulosus s.l.*, di cui il 99% sono animali domestici (ovini, bovini, caprini, maiali, cavalli e cani). Questi dati sono stati ottenuti principalmente dall'ispezione delle carni eseguite dopo la macellazione presso il mattatoio. Inoltre sono stati testati più di 475.000 animali selvatici (mufloni, renne, cervi, cinghiali, alci, lupi, bufali e volpi).

Dodici Stati membri hanno riportato un totale di 113.517 campioni positivi, di cui 113.237 erano provenienti da animali domestici e 280 da animali selvatici. Gli animali positivi erano principalmente pecore e capre (N=59.287, 52%), suini (N=46.285, 41%) e bovini (N=7.650; 6,7%).

Cipro, Finlandia, Italia e Spagna hanno riportato i risultati di *E. granulosus s.l* in mufloni, renne, cervi, cinghiali, alci e lupi. Inoltre, i Paesi Bassi hanno segnalato un cane positivo con *Echinococcus* spp. su 1.495 testati, mentre l'Austria ha riferito due suini positivi con *Echinococcus* spp. su 5.381.689 testati.

Le specie più importanti testate per *E. granulosus s.l*, tra quelle domestiche e selvatiche, quali ospiti definitivi e intermedi del parassita, sono state ovini, caprini, bovini, suini, mufloni, renne, solipedi domestici, cervi, bufali, cinghiali, alci, lupi e cani.

In base a questi dati, il maggior numero di animali infetti da *E. granulosus s.l*. è stato segnalato in Bulgaria, Grecia, Italia, Polonia e Spagna (EFSA, 2016).

Echinococcus granulosus, precedentemente considerato come una singola specie, come già specificato nel capitolo della tassonomia, attualmente è riconosciuto come un complesso di specie. Sulla base delle caratteristiche fenotipiche e delle sequenze geniche, *E. granulosus s.l*. diffuso in Europa è ormai suddivisa in *E. granulosus sensu stricto* (il "ceppo ovino" e il "ceppo del bufalo", genotipi G1 e G3), *Echinococcus equinus* (il "ceppo del cavallo", G4), *Echinococcus ortleppi* (il "ceppo del bovino", G5) e *Echinococcus canadensis* (il "ceppo del cammello", G6, il "ceppo di suino", G7, due "Ceppi cervidi", G8 e G10) (Romig et al., 2015).

E. granulosus sensu stricto, e secondariamente *E. canadensis* (G7), è l'agente eziologico più frequente dell'echinococcosi cistica umana in Europa. Poiché la presenza della maggior parte dei ceppi di *Echinococcus* dipende dalla diffusione e presenza di specifiche specie di bestiame che rappresentano l'ospite intermedio, va sottolineato che la distribuzione di *E. granulosus s.l*. in Europa è fortemente influenzata dalla zootecnia e dal commercio degli animali. Una distribuzione approssimativa di *E. granulosus s.l* e le specie/genotipi di *Echinococcus* in Europa sono riportati in [Figura 17](#) e [18](#) rispettivamente.



Figura 17 – Distribuzione di *Echinococcus granulosus* s.l. in Europa (Fonte: WHO, 2011).

Per quanto riguarda i dati sugli animali la qualità dei dati riportati su *Echinococcus* spp. è migliorata negli ultimi anni: maggiori informazioni sul campionamento delle specie, sebbene non sia ancora sufficiente per una valutazione completa e dettagliata. Sarebbe di estrema importanza, al fine di fornire un quadro epidemiologico più preciso, fornire tali dati con ulteriori informazioni aggiuntive anagrafiche quali la classe di età del bestiame. Inoltre c'è un *gap* sull'accuratezza dei test diagnostici per la rilevazione di *Echinococcus* spp. Infatti, come suggerito dal AHAW Panel, dovrebbero essere stimolati studi finalizzati a stimare la probabilità di ogni test di rilevare l'infestazione usando campioni adeguati provenienti da aree endemiche dove tutte le fasi di infestazione ed intensità sono rappresentate (EFSA, 2016).

Ulteriore considerazione da fare è che l'ispezione *post-mortem*, che routinariamente viene effettuata presso il mattatoio, è considerata l'approccio standard per la rilevazione della presenza di *E. granulosus* s.l. Tuttavia l'accuratezza di questo test può essere influenzata da diversi fattori quali l'identificazione errata (falsi positivi dovuti a specie di *Taenia* o cisti non parassitarie), l'accuratezza dell'ispezione (falsi negativi

dovuti ad una valutazione visiva non esperta) o sovra/sottostima causata dal *bias* introdotto con la valutazione della classe d'età (Cardona e Carmena, 2013; WHO, 2016).

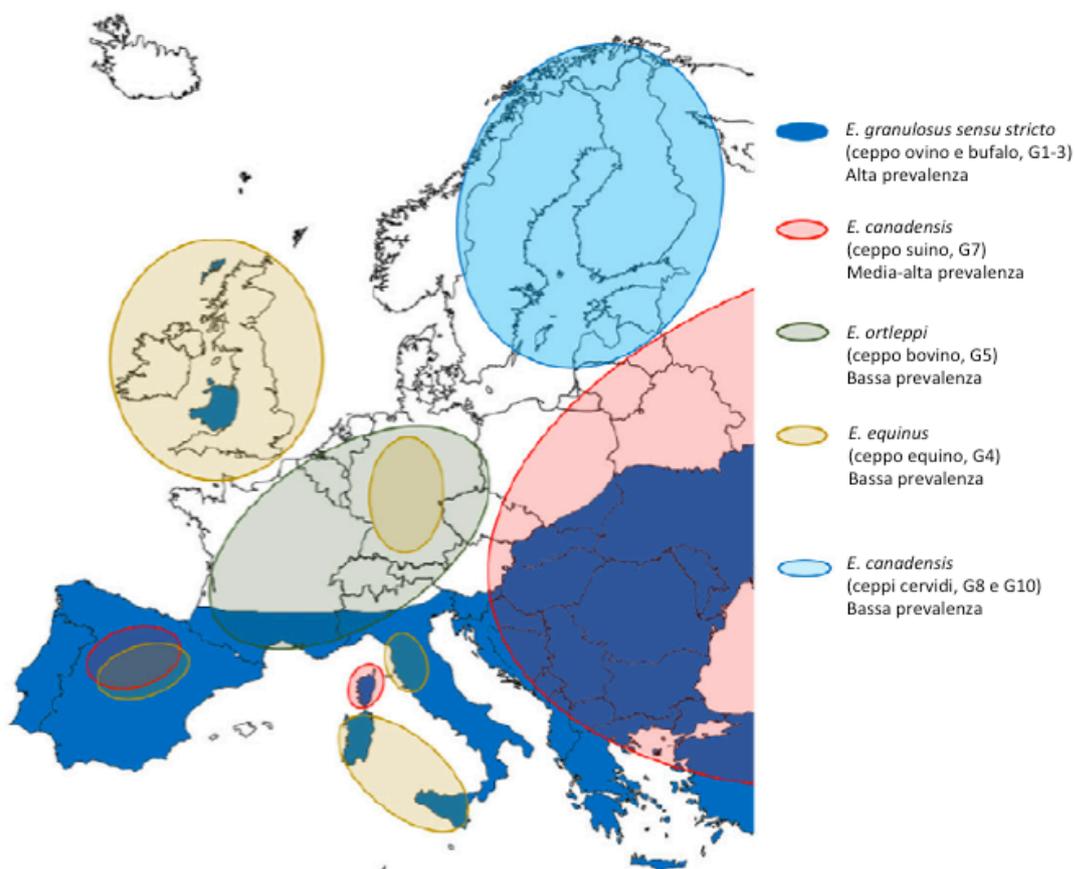


Figura 18 – Distribuzione geografica di ceppo/genoripo appartenente to *Echinococcus granulosus* s.l. in Europa (Fonte: EFSA, 2016).

3.12.2. Dati sull'uomo

In Europa esistono sistemi di sorveglianza nazionali molto eterogenei per l'EC. Tuttavia il confronto dei casi notificati con i dati provenienti dai registri ospedalieri indica una chiara discrepanza con una costante sottovalutazione del peso della parassitosi (Petrone et al., 2015; Manzano-Román et al., 2015). Ad esempio, Pardo et al. hanno segnalato un numero di casi pari a due o quattro volte più basso rispetto ai registri ospedalieri in alcune regioni spagnole dal 1996 al 2003 (Pardo et al., 2005).

Il tasso di notifica UE dei casi di echinococcosi umana è rimasto pressoché stabile dal 2011. Purtroppo i dati del report ECDC non differenziano le due forme cliniche,

l'echinococcosi cistica e l'echinococcosi alveolare, causate rispettivamente da *E. granulosus* e *E. multilocularis*. Dall'inizio della sorveglianza della echinococcosi umana nell'UE, *E. granulosus* è stato riportato cinque o sei volte più frequentemente rispetto a *E. multilocularis* ma ha mostrato una tendenza decrescente negli ultimi 8 anni.

Nel 2015 sono stati riportati 872 casi umani confermati di echinococcosi nell'UE (Tabella XIII). Ventisette SM hanno riportato almeno un caso confermato e quattro SM hanno riportato zero casi; Malta è l'unico SM a segnalare zero casi nel precedente periodo di 5 anni. Il tasso di notifica dell'UE è risultata di 0,20 casi per 100.000 abitanti, dato stabile nei 5 anni precedenti. Il tasso di notifica più alto è stato osservato in Bulgaria con 4,35 casi per 100.000 abitanti, seguiti da Lituania, Lettonia e Paesi Bassi con 1,13, 0,50 e 0,38 casi rispettivamente per 100.000 abitanti. In Romania il numero di casi e il tasso di notifica riportato nei report di sintesi dell'UE sono diminuiti negli ultimi tre anni. In base alle informazioni ricevute dagli SM, tra i casi di cui è stata fornita all'ECDC anche l'informazione relativa alla specie, *E. granulosus* rappresenta il 58,6% dei casi (466 casi), la maggioranza (67,2%; 313 casi) provenienti dalla Bulgaria. Nel periodo 2008-2015 è riportato dall'ECDC un *trend* decrescente, significativo negli ultimi 8 anni ($p < 0.01$), nel numero di casi riportati nell'UE (Figura 19).

Il *trend* sembra stabilizzarsi nel 2015. Nonostante la diminuzione del *trend*, nessuna delle 19 nazioni singolarmente mostra per l'intero periodo 2008-2015 variazioni significative. La Bulgaria, che ha mostrato la maggioranza dei casi nell'UE nel periodo 2008-2015 (tutti i casi erano dovuti a *E. granulosus*), non è stata inclusa nei calcoli del *trend* poiché ha fornito all'ECDC solo dati complessivi e non dati mensili. In generale il numero di casi della Bulgaria è diminuito del 18,9% dal 2008 al 2015. Anche nei Paesi Bassi i casi di echinococcosi sono diminuiti dal 1997 al 2008 (Herremans et al., 2010), negli ultimi anni, però, il numero dei casi è aumentato e tornato ai valori iniziali. La migliore consapevolezza della malattia tra i medici e il fenomeno della migrazione (persone provenienti da paesi endemici) può avere influenzato il numero dei casi diagnosticati (EFSA, 2016).

La prevalenza di *E. granulosus* è elevata in Africa settentrionale e in Asia e gli spostamenti di persone provenienti da questi paesi potrebbero avere un impatto sul numero di casi rilevati nell'UE. I risultati preliminari del progetto HERACLES ("HERACLES: Human cystic Echinococcosis ReseArch in Central Easter Societies")

mostrano differenze geografiche importanti nel valore di prevalenza umana di echinococcosi nei paesi dell'UE (Tamarozzi et al., 2015).

Paese	2015					2014		2013		2012		2011	
	Copertura nazionale (a)	Formato dati (a)	Casi totali	Casi confermati & tasso notifica									
				Casi	Tasso								
Austria	S	C	8	8	0,09	14	0,17	11	0,13	3	0,04	7	0,08
Belgio	S	A	6	6	0,05	15	0,13	15	0,13	6	0,05	1	0,01
Bulgaria	S	A	313	313	4,35	302	4,17	278	3,82	320	4,37	307	4,17
Croazia	S	A	7	7	0,17	20	0,47	0	0,00	0	0,00	-	-
Cipro	S	C	2	2	0,24	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	0,24
Repubblica Ceca	S	C	3	3	0,03	6	0,06	2	0,02	0	0,00	0	0,00
Danimarca(b)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Estonia	S	C	0	0	0,00	1	0,08	3	0,23	3	0,23	0	0,00
Finlandia(c)	S	C	2	2	0,04	0	0,00	4	0,07	3	0,06	1	0,02
Francia	S	C	48	48	0,07	32	0,05	34	0,05	49	0,08	45	0,07
Germania	S	C	145	145	0,18	127	0,16	132	0,16	119	0,15	142	0,17
Grecia	S	C	13	13	0,12	13	0,12	10	0,09	21	0,19	17	0,15
Ungheria	S	C	2	2	0,02	2	0,02	5	0,05	6	0,06	11	0,11
Irlanda(c)	S	C	0	0	0,00	0	0,00	1	0,02	0	0,00	0	0,00
Italia(b)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lettonia	S	C	10	10	0,50	13	0,65	7	0,35	8	0,39	10	0,48
Lituania	S	C	33	33	1,13	22	0,75	23	0,77	23	0,77	24	0,79
Lussemburgo	S	C	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	0,20
Malta(c)	S	C	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Paesi Bassi	S	A	64	64	0,38	30	0,18	33	0,20	50	0,30	49	0,29
Polonia	S	C	47	47	0,12	48	0,13	39	0,10	28	0,07	19	0,05
Portogallo	S	C	4	4	0,04	4	0,04	3	0,03	2	0,02	1	0,01
Romania	S	C	18	18	0,09	31	0,16	55	0,28	96	0,48	53	0,27
Slovacchia	S	C	5	5	0,09	8	0,15	20	0,37	3	0,06	2	0,04
Slovenia	S	C	7	7	0,34	5	0,24	6	0,29	6	0,29	8	0,39
Spagna	S	C	83	83	0,18	77	0,17	94	0,20	96	0,21	53	0,11
Svezia	S	C	26	26	0,27	21	0,22	16	0,17	16	0,17	19	0,20
Regno Unito(c)	S	C	26	26	0,04	25	0,04	14	0,02	7	0,01	9	0,01
Totali UE	-	-	872	872	0,20	816	0,20	805	0,18	865	0,20	781	0,18
Islanda	S	C	0	0	0,0	0	0,0	0	0,00	-	-	-	-
Norvegia(c)	S	C	2	2	0,0	0	0,00	2	0,04	2	0,04	3	0,06

(a): S:si; N:no; A: dati aggregati; C: dati fondati su casi; -:nessun dato riportato

(b): Nessun sistema di sorveglianza

(c): Finlandia, Irlanda, Malta, Regno Unito e Norvegia sono stati dichiarati liberi da *E. multilocularis*

Tabella XIII – Casi umani di echinococcosi – tasso di notifica per 10⁻⁵ abitanti (periodo 2011–2015).

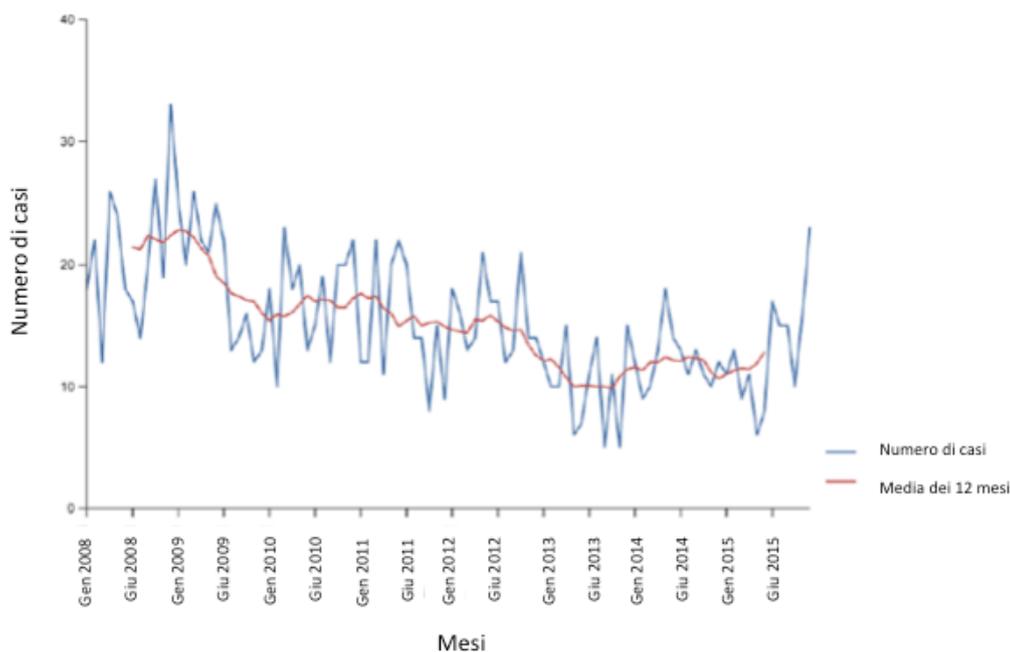


Figura 19 - Trend dei casi umani (confermati) di *E. granulosus* nell'EU, per mese (periodo 2008–2015) (Fonte: EFSA, 2016).

Va sottolineato che i casi umani di EC notificati da un paese all'ECDC non riflettono la reale situazione epidemiologica in Europa. Infatti la vera prevalenza di questa malattia è estremamente difficile da stimare a causa del lungo periodo di incubazione, l'elevata percentuale di portatori asintomatici o paucisintomatici che non cercano mai l'assistenza medica (CE) e la sottodiagnosi/errata diagnosi (AE e CE), fattori che contribuiscono allo stato "negletto", trascurato, di questa parassitosi.

Per questi motivi i dati sul numero di persone affette da echinococcosi, attualmente riportato dagli SM dell'UE, sono parziali e rappresentano solo la "punta di un iceberg". La parte invisibile include i soggetti asintomatici portatori di EC e i casi mal diagnosticati. A differenza dell'EA, l'EC può essere considerata più come un patologia cronica, invalidante e raramente letale (Possenti et al., 2016). Ad esempio, i dati di letteratura pubblicati di recente hanno riportato circa 34.000 ricoveri per EC in Italia, Francia e Spagna in 12-, 16- e 12-anni, rispettivamente (Brundu et al., 2014; van Cauteren et al., 2016; Herrador et al., 2016).

Questi tre studi mostravano un *trend* negativo nel tempo nel numero di ricoveri. In particolare nel 2012, tali ricoveri, sono stati stimati 242 in Francia, 535 in Spagna e 703

in Italia. Gli studi portati avanti con l'uso di metodiche di diagnostica per immagini (ultrasuoni) effettuate in Romania nel corso del 2014/2015, hanno valutato un campione di 7.500 persone in aree rurali (Casulli, 2016; EFSA, 2016), lo studio ha mostrato una duplicazione dei casi di EC notificati a livello nazionale in Romania durante lo stesso periodo di tempo. Questi dati danno un'idea della reale importanza dell'EC umana quale problema di salute pubblica e l'importanza dei relativi costi correlati a questa parassitosi in Europa.

3.13. Distribuzione in Italia

Le relazioni dell'EFSA e dell'ECDC evidenziano che è assente in Italia un sistema di sorveglianza dell'EC umana. Di conseguenza non ci sono dati ufficiali trasmessi alle autorità europee e i dati epidemiologici riguardanti gli animali sono incompleti (EFSA, 2016). Nonostante l'attenzione crescente al problema e il numero sempre più elevato di rapporti epidemiologici le informazioni disponibili sulla distribuzione della EC in Italia risultano ancora incomplete e comunque insufficienti a valutarne, anche in maniera approssimativa, l'epidemiologia (Garippa et al., 2004; Conchedda et al., 2010; Gabriele et al., 2004; Garippa, 2006; Mastrandrea et al., 2012; Rabozzi et al., 2012; Brundu et al., 2014). La diffusione della malattia appare infatti sottostimata, essendo i dati pubblicati largamente in difetto (ospiti animali intermedi), inattendibili (uomo) o quasi assenti (cani), e poiché, a causa delle modifiche normative intervenute negli anni, l'echinococcosi non è più obbligatoriamente denunciabile, è inoltre previsto il solo riepilogo annuale da parte delle ASL al Ministero.

3.13.1. *Echinococcus in Italia: genotipi identificati*

In Italia sono stati identificati sei genotipi in diversi ospiti (Tabella XIV), ma la loro distribuzione non risulta uniforme.

E. granulosus (G1-3) è la specie più frequentemente identificata in ospiti intermedi e definiti. Nel 2008, la presenza di G2 nei bufali è stata segnalata per la prima volta nelle regioni dell'Italia meridionale (area del Mediterraneo) (Capuano et al., 2006; Casulli et al., 2008; Rinaldi et al., 2008a) e Calderini et al. (2012) hanno riferito la presenza del genotipo G3 nelle capre (Calderini et al., 2012). *Echinococcus granulosus* (G1-3) è stato confermato nei cani (Maurelli et al., 2015) e nell'uomo (Busi et al., 2007) nella

regione Campania, *E. intermedius* (G7) nei suini in Sardegna (Varcasia et al., 2006) *E. ortleppi* nei bovini della regione lombarda (Casulli et al., 2008) ed *E. equinus* nei cavalli della Toscana, della Sardegna e della Sicilia (Scala et al., 2006; Varcasia et al., 2008).

Paese	Uomo	Cane (C) Lupo (L)	Ovini (O) Caprini (Ca)	Bovini (Bo) Bufali (Bu)	Equini	Suini (S) Cinghiali (Ci)
ITALIA	G1-3 ¹	C: G1-3 ² L: G1-G3 ³	O: G1-G3 ¹ Ca: G3 ⁴	Bo: G1-G3 ^{1,3,4,5} Bo: G5 ^{1,3,4,5} Bu:G1-G3 ^{3,6,7}	G4 ^{8,9}	S: G1 ⁵ S: G7 ⁵ Ci: G1 ¹

Tabella XIV - Genotipi di *Echinococcus* spp. causa di echinococcosi cistica in Italia: *Echinococcus granulosus* (G1-3), *Echinococcus equinus* (G4), *Echinococcus ortleppi* (G5), *Echinococcus intermedius* (G6/7)

¹(Busi et al., 2007); ²(Deplazes et al, 2017); ³(Casulli et al., 2008); ⁴(Rinaldi et al., 2008b); ⁵(Varcasia et al., 2006); ⁶(Capuano et al., 2006); ⁷(Rinaldi et al., 2008a); ⁸(Scala et al., 2006); ⁹(Varcasia et al., 2008).

3.13.2. Distribuzione di EC in Italia: dati animali

Per quanto riguarda l'Italia, l'infestazione da *E. granulosus* è presente globalmente ma sono state identificate, nel tempo, importanti differenze regionali (aree con casi sporadici, aree endemiche ed iperendemiche), con un gradiente nord-sud (Garippa, 2006). EC ha una distribuzione sporadica nelle regioni settentrionali dove la prevalenza negli animali da allevamento ha i valori più bassi registrati in Italia (<1%) (Manfredi et al., 2011).

Nell'Italia centrale l'EC è di solito registrata in capi di bestiame con più bassa prevalenza rispetto alle regioni meridionali. In Abruzzo e in Toscana le prevalenze della parassitosi negli ovini sono risultate rispettivamente del 22% e del 47% (Garippa, 2006). Per quanto riguarda l'Italia meridionale, in Campania i valori di prevalenza sono risultati del 33,3-75,0% negli ovini (Deplazes et al., 2017), 10,4% nei bovini, (Rinaldi et al., 2008b) e il 10,5% nei bufali (Capuano et al., 2006), mentre in Basilicata sono state colpite il 67,7% degli ovini e più a sud in Calabria la prevalenza è di circa il 15% negli ovini (Deplazes et al., 2017).

La maggiore prevalenza di EC è stata comunque osservata in Sardegna e in Sicilia con valori pari al 75,0% (Scala et al., 2006) e al 57,6% (Giannetto et al., 2004), con una fertilità rispettivamente del 10,3% e del 9,2%, mentre la prevalenza osservata nei

bovini era del 41,5% (cisti fertili 2,6%) e 67,1% (cisti fertili 4%) nelle stesse aree (Garippa, 2006).

La parassitosi è stata segnalata anche in diverse regioni italiane in suini con una prevalenza del 9,4 e 11,1% (Garippa et al., 2004; Varcasia et al., 2006) e del 3,7% nei cinghiali (Varcasia, 2008). Una prevalenza minore dell'1% è stata riportata nei cavalli (Varcasia et al., 2008). Nei cani, quali ospiti definitivi, la prevalenza di *E. granulosus* è generalmente inferiore al 6% (Garippa, 2006; Maurelli et al., 2015; Varcasia et al., 2011). È interessante notare che *E. granulosus* è stato isolato anche nel 5,9-15% dei lupi del nord Italia (Gori et al., 2015; Guberti et al., 2004). Il ruolo del lupo come ospite definitivo per *E. granulosus* è confermato in Italia in particolare nella zona dell'Appennino.

3.13.3. Distribuzione di EC in Italia: dati nell'uomo

In Italia l'EC continua ad essere un problema di salute pubblica con un'incidenza annuale di 1,6 casi/10⁵ abitanti, come mostrato nello studio pubblicato nel 2014 da Diego Brundu *et al.*, studio retrospettivo sulla EC umana in Italia, dove viene mostrata l'analisi delle schede di dimissione ospedaliera (SDO), dati tratti dal Ministero della salute (anni 2001-2012). L'analisi è stata sviluppata su 16.550 SDO relative a 10.682 pazienti italiani: l'incidenza media annua (Alh³) di EC in Italia, negli anni considerati, è risultata di 1,6 casi/10⁵ abitanti. L'incidenza media annua più alta è stata registrata nelle Isole, seguite dal Sud (soprattutto Basilicata con 5,4/10⁵ abitanti) e poi dal Centro (Lazio con 1,65/10⁵ abitanti).

L'incidenza media annua nel Nord-ovest e nel Nord-est è risultata notevolmente inferiore (0,61 casi/10⁵ abitanti in Liguria e 0,62 casi/10⁵ abitanti in Emilia Romagna). Tra i 10.682 pazienti registrati, 5.581 (52%) erano uomini, e 5.101 (48%) donne, l'età delle persone infette, al momento della diagnosi variava da 1 a 100 anni, con una

³Il valore dell'incidenza media annua dei casi ospedalieri aggiustati sulla base della percentuale stimata dei vecchi casi, è stata calcolata secondo la seguente formula: $Alh = lh \times C$, dove C è il fattore di correzione per i dati annuali e lh è il tasso di incidenza grezzo. È stato infatti utilizzato un fattore di correzione dei dati annuali per calcolare i tassi di incidenza ospedaliera corretti. I *trends* nel corso del tempo dell'incidenza di EC sono stati determinati mediante analisi di regressione lineare. Il tasso di incidenza grezzo (lh) è il numero dei casi di EC incidenti (n) diviso la stima della popolazione corrispondente (N) per ognuno degli anni in esame (t) ($lh = [n / (N \times t)] \times 100$ mila).

media di 59 anni. Oltre la metà dei casi (58%) era distribuita in zone rurali ed il 28% nelle aree urbane. Nello stesso studio viene mostrata l'analisi dell'incidenza nelle province italiane attraverso il calcolo dei tassi di incidenza media annua (AIh).

L'incidenza media annua (AIh) superiore a 2 casi/10⁵ abitanti è stata osservata in 31/110 province italiane (28%), 16 delle quali si trovano nelle Isole, 13 nel Sud e 2 al Centro. L'AIh più alta è stata registrata nella provincia di Nuoro (11,9 casi/10⁵ abitanti), seguita dalla Provincia di Ogliastra (10,2 casi/10⁵ abitanti), in Sardegna, e nella Provincia di Enna (8,8 casi/10⁵ abitanti), in Sicilia (Figura 20) (Brundu et al., 2014).

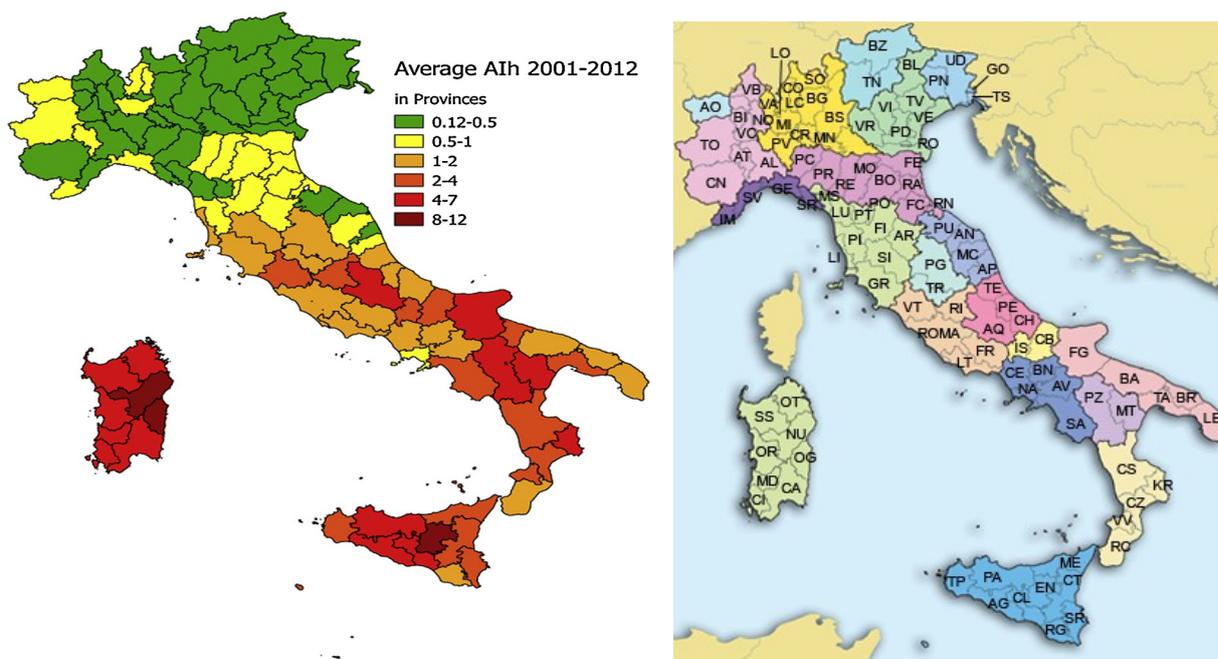


Figura 20 - Distribuzione geografica di AIh (2001-2012) nelle province italiane (Fonte: Brundu et al., 2014).

Lo studio consente di analizzare anche i dati relativi alla Regione Lazio (Tabella XV). Dai dati demerge che il valore dell'AIh, nel periodo 2001-2012, è pari a 1,65 casi/10⁵ abitanti.

Ogni caso di EC produce una media di 0,97 DALY (Torgerson et al., 2015). Con oltre 1000 casi all'anno in Italia (Brundu et al., 2014), si può calcolare un peso della malattia parassitaria almeno di 2000 DALY per anno.

Tuttavia, un sistema di segnalazione basato esclusivamente su schede di dimissione ospedaliera non è sufficiente: una parte dei casi di EC è diagnosticata e gestita in

ambito ambulatoriale (Petroni et al., 2013) e molti dei casi asintomatici possono essere diagnosticati solo durante campagne di screening (Tamarozzi et al., 2015).

Regione	Aih ^a												Aih ^b	r ²	p ^c
	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2001-2012		
Sardegna	11,0	10,3	10,0	10,2	7,8	6,6	4,5	6,4	4,0	3,9	3,5	3,5	6,8	0,9	<0.05
Basilicata	10,8	8,9	6,7	5,2	5,4	5,2	3,7	3,9	5,4	3,9	2,7	3,4	5,4	0,7	<0.05
Sicilia	6,8	5,7	5,8	5,3	4,6	4,0	3,8	2,9	3,0	2,2	1,6	1,8	3,9	0,9	<0.05
Molise	4,5	5,0	2,5	4,3	3,1	3,4	2,8	1,8	0,6	2,1	2,2	1,6	2,8	0,8	<0.05
Calabria	5,3	4,4	4,0	3,3	2,6	3,1	2,4	2,3	2,6	1,6	1,5	1,2	2,6	0,9	<0.05
Puglia	3,9	2,9	2,7	2,7	2,6	1,9	1,9	1,8	1,7	1,5	1,2	1,1	2,1	0,9	<0.05
Abbruzzo	3,8	3,2	1,8	2,6	2,3	2,3	1,3	2,1	1,2	0,9	1,0	1,5	2,0	0,7	<0.05
Lazio	2,7	2,4	2,4	2,4	2,0	1,9	1,2	1,1	1,1	0,8	0,8	0,9	1,6	0,9	<0.05
Umbria	2,0	1,4	1,6	1,7	1,0	1,1	1,0	0,6	1,3	0,7	0,7	0,5	1,2	0,7	<0.05
Campania	1,7	1,5	1,4	1,6	1,4	1,4	1,1	1,1	0,8	0,7	0,6	0,4	1,1	0,9	<0.05
Toscana	1,2	1,1	1,1	0,8	0,6	0,5	0,4	0,7	0,4	0,5	0,3	0,3	0,6	0,8	<0.05
Emilia R.	0,9	0,7	0,5	0,7	0,6	0,8	0,6	0,4	0,5	0,6	0,4	0,4	0,6	0,5	<0.05
Liguria	0,9	0,8	0,7	0,7	0,5	0,2	0,7	0,8	0,4	0,5	0,6	0,3	0,6	0,2	0,6
Valle Aosta	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	1,6	1,6	1,6	1,5	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	0,8
Piemonte	0,8	0,6	0,5	0,6	0,7	0,5	0,5	0,6	0,2	0,3	0,3	0,3	0,5	0,6	<0.05
Marche	1,1	0,8	0,6	0,4	0,4	0,6	0,5	0,3	0,3	0,3	0,3	0,0	0,5	0,6	<0.05
Lombardia	0,9	0,7	0,6	0,6	0,5	0,4	0,2	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,4	0,8	<0.05
Trentino A.A.	0,3	0,4	0,3	0,6	1,1	0,5	0,2	0,4	0,3	0,0	0,1	0,1	0,3	0,1	0,1
Friuli V.G.	0,5	0,0	0,4	0,1	0,1	0,0	0,1	0,4	0,2	0,1	0,3	0,3	0,2	0,1	0,2
Veneto	0,2	0,2	0,0	0,3	0,2	0,2	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,2	0,0

Aih^a: Incidenza annua dei casi ospedalieri aggiustati sulla base della percentuale stimata dei vecchi casi (casi per 100.000 abitanti). Aih^b: Incidenza media annua dei casi ospedalieri aggiustati sulla base della percentuale stimata dei vecchi casi. r²: Coefficiente di correlazione. p^c: Diminuzione statisticamente significativa nel trend di incidenza (casi per 100.000 abitanti)

Tabella XV – Tassi annuali di incidenza dei casi ospedalieri di EC nelle regioni italiane e dei risultati delle analisi, tra il 2001 e il 2012 (Brundu et al., 2014).

Per fronteggiare queste criticità in Italia è nato il Registro Italiano dell'Echinococcosi Cistica (RIEC), un progetto nato dalla collaborazione tra Istituto Superiore di Sanità e Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia, che si propone di far emergere le dimensioni reali di questa patologia nella popolazione italiana. Il progetto prevede la creazione di un database organizzato in schede nelle quali vengono riportati: i dati anagrafici dei pazienti, quelli relativi all'anamnesi geografica e ai fattori di rischio occupazionale e la "storia" della malattia del paziente (prima diagnosi, numero e localizzazione delle cisti, sintomatologia, interventi chirurgici, terapie farmacologiche, ecc.).

Dal gennaio 2012 al febbraio 2014, sono stati arruolati nel progetto un totale di 346 pazienti in 11 centri partecipanti, superando per numero di relazioni nazionali molti altri paesi europei endemici per EC: un totale di 110 maschi e 102 pazienti donne con diagnosi di EC. La media dell'età anagrafica alla diagnosi era di 40 anni (SD: 6,8, range: 5-77). Dei 212 pazienti: 131 (62%) erano nati in Italia, mentre 81 (38%) erano stranieri (Marocco e Romania erano i paesi di nascita dei pazienti con stranieri (n=22 e n=15, rispettivamente), mentre la maggior parte dei pazienti italiani erano nati nelle regioni meridionali della Sicilia (28%, n=37) e Calabria (16%, n=21). Nel 2012 sono stati registrati 14 nuovi casi (13% di 108 visite nel 2012) e 21 nel 2013 (21% di 99 visite nel 2013). Durante il primo arruolamento la maggioranza dei pazienti (70%, n=148) avevano una singola cisti e 333 di 361 cisti (92%) erano a localizzazione epatica.

I dati preliminari del RIEC dimostrano che EC è ancora presente in Italia e che i casi in gran parte superano il numero di casi nazionali riportati dalla maggior parte dei paesi europei endemici (ECDC, 2013), sottolineando la necessità di un sistema di *reporting* migliore per questa parassitosi a livello nazionale e a livello europeo.

4. OBIETTIVI DELLA RICERCA

4.1. Premessa

L'ampia distribuzione geografica dell'EC e l'elevato costo che comportano prevenzione e trattamento hanno determinato un grande interesse scientifico e normativo per l'argomento, inserendola tra le patologie ad interesse occupazionale. Infatti attualmente la normativa italiana, in particolare il D.M. 27/04/2004 e s.m.i., inserisce l'Echinococcosi Cistica negli elenchi delle numerose zoonosi occupazionali del settore zootecnico e parazootecnico: appartenente alla Lista I ossia alla lista di "malattie la cui origine lavorativa è di elevata probabilità". Anche il Testo Unico sulla salute e sicurezza sul lavoro (D. Lgs. 81/2008 e s.m.i.) dedica un intero titolo (X) all'esposizione ad agenti biologici e nello specifico allegato classifica *E. granulosus* come un agente biologico di gruppo 3, cioè ad elevato rischio individuale per il lavoratore. A seguito di ciò alcune categorie di lavoratori possono essere considerate a maggiore rischio di infestazione (ad es. pastori, addetti alla macellazione, allevatori, agricoltori, macellai, veterinari, conciatori), anche se scarsi risultano gli studi attuali condotti su popolazioni lavorative potenzialmente esposte al rischio di EC (Farahmand e Yadollahi, 2010; Singh et al., 2013).

Le relazioni dell'EFSA e dell'ECDC evidenziano che è assente in Italia un sistema di sorveglianza dell'EC umana. Di conseguenza non ci sono dati ufficiali trasmessi alle autorità europee e i dati epidemiologici riguardanti gli animali sono incompleti e comunque insufficienti a valutarne, anche in maniera approssimativa, l'epidemiologia. I pochi dati nazionali sulla distribuzione del fenomeno nell'uomo sono quelli derivanti dall'analisi delle SDO: questi dati sono però riferiti ai soli casi di malattia conclamata e riguardano l'intera popolazione generale, senza tener conto della variabile "attività lavorativa". Questi dati inoltre non riflettono e descrivono il quadro epidemiologico reale in Italia poiché la vera prevalenza della parassitosi è estremamente difficile da stimare a causa di:

- lungo periodo di latenza tra infestazione e manifestazione clinica;

- elevata percentuale di portatori asintomatici o paucisintomatici che non cercano mai l'assistenza medica e che possono essere diagnosticati solo durante campagne di screening;
- diagnosi e gestione dei casi spesso ambulatoriale, in questo modo i casi sfuggono al sistema di registrazione delle SDO;
- recidive frequenti, tanto che l'EC può essere considerata una vera e propria patologia cronica invalidante e raramente letale;
- la sottodiagnosi/errata diagnosi;

tutti fattori che contribuiscono allo stato "negletto", trascurato, di questa parassitosi.

Inoltre indicazioni preliminari indicherebbero una sostanziale variabilità in relazione alla regione di provenienza, in conseguenza della diffusione della pastorizia ovina e della prevalenza nei serbatoi animali.

Sebbene l'echinococcosi sia iperendemica nei Paesi del Bacino del Mediterraneo, la scarsa/incompleta conoscenza dei dati epidemiologici e la lunga latenza della malattia rendono difficile la formulazione di stime di prevalenza della parassitosi nell'uomo che risulterebbe senza dubbio sottostimata.

4.2. Obiettivo generale

A seguito di tali considerazioni è stata elaborata questa proposta di ricerca il cui obiettivo principale è stato quello di: a) descrivere il fenomeno/rischio potenziale zoonosico lavorativo dell'EC nelle aree rurali italiane della regione Lazio, in particolare nella provincia di Rieti, tramite l'utilizzo delle fonti dati esistenti (SDO, dati sul monitoraggio effettuato negli animali allevati nella stessa area), la determinazione della siero-prevalenza di EC in lavoratori potenzialmente esposti al rischio e la valutazione dei fattori di rischio occupazionali ed extralavorativi e b) proporre e sviluppare un modello e strumento specifico di valutazione dei rischi per i lavoratori del settore.

La ricerca, come già detto, è stata indirizzata verso il territorio della Regione Lazio e, a seguito dell'analisi critica dei dati SDO mostrati da Brundu et al. (2014), all'interno della provincia di Rieti che presenta, insieme alla provincia di Viterbo, il valore maggiore nel Lazio di AI_h (valore dell'incidenza media annua dei casi ospedalieri aggiustati sulla base della percentuale stimata dei vecchi casi): compreso tra 1 e 2

(periodo 2001-2012) (Brundu et al, 2014) (Figura 20).

4.3. Obiettivi specifici

Gli obiettivi specifici comprendono: a) la valutazione della risposta immunitaria in soggetti lavoratori e donatori potenzialmente esposti, b) la valutazione della differenza di genere, età e provenienza nell'esposizione al rischio da EC, c) l'identificazione di misure generali e specifiche di tutela, con particolare riguardo alle misure preventive/protettive per la gestione del rischio nelle categorie professionali maggiormente a rischio

5. MATERIALI E METODI

5.1. Fasi della ricerca

Prima dell'avvio dell'indagine sono stati ottenuti l'approvazione da parte del Comitato Etico dell'Università Sapienza di Roma (verbale della seduta del 28.01.16 Rif. 3675 Prot. 84/16) ed il consenso informato da parte di tutti i partecipanti allo studio.

Fase 1 – Valutazione del contesto epidemiologico

A seguito della collaborazione con la ASL di Rieti (UOC Statistica Sanitaria e Determinanti della Salute e Dipartimento di Prevenzione - Servizio Sanità Animale) sono stati acquisiti, per la zona di Rieti e provincia, i dati relativi alle schede di dimissione ospedaliera (SDO) con codici di diagnosi correlata all'Echinococcosi Cistica e i dati sul monitoraggio effettuato negli animali allevati nella stessa area.

La popolazione residente in provincia di Rieti al Censimento del 2011 (Istituto Nazionale di Statistica) è risultata composta da 155.164 individui. In base ai dati dell'Anagrafe Nazionale Zootecnica, al febbraio 2015, il numero totale di allevamenti e "altre strutture" per ovi-caprini era pari a 2.512 e il numero totale di capi ovi-caprini pari a 77.766. La scelta dei comuni da sottoporre ad indagine è avvenuta a seguito dell'analisi dei dati sugli animali (positività), ottenuti durante le attività di controllo al mattatoio da parte dei veterinari dell'Azienda Sanitaria Locale di Rieti (ASL).

Fase 2a – Reclutamento dei lavoratori potenzialmente esposti al rischio di Echinococcosi Cistica

A seguito della collaborazione con la ASL di Rieti – Dipartimento di Prevenzione, e a seguito del supporto delle associazioni di categoria, in particolare Coldiretti, è stato acquisito l'elenco delle Aziende agricole presso le quali si pratica allevamento ovi-caprino corredate delle specifiche caratteristiche (area e indirizzo aziendale, contatti dell'intestatario, consistenza del bestiame e modalità di allevamento).

Con il supporto ricevuto dalla ASL di Rieti e dalle associazioni di categoria (Coldiretti) è stata diffusa capillarmente la proposta di adesione al protocollo di studio ai lavoratori potenzialmente esposti al rischio di EC (allevatori – pastori) e, a seguito dell'accettazione, è stata ottenuta la firma del consenso informato. Lo Schema di

studio utilizzato per il gruppo dei lavoratori potenzialmente esposti al rischio di Echinococcosi Cistica è mostrato nella flow chart successiva (Figura 21).

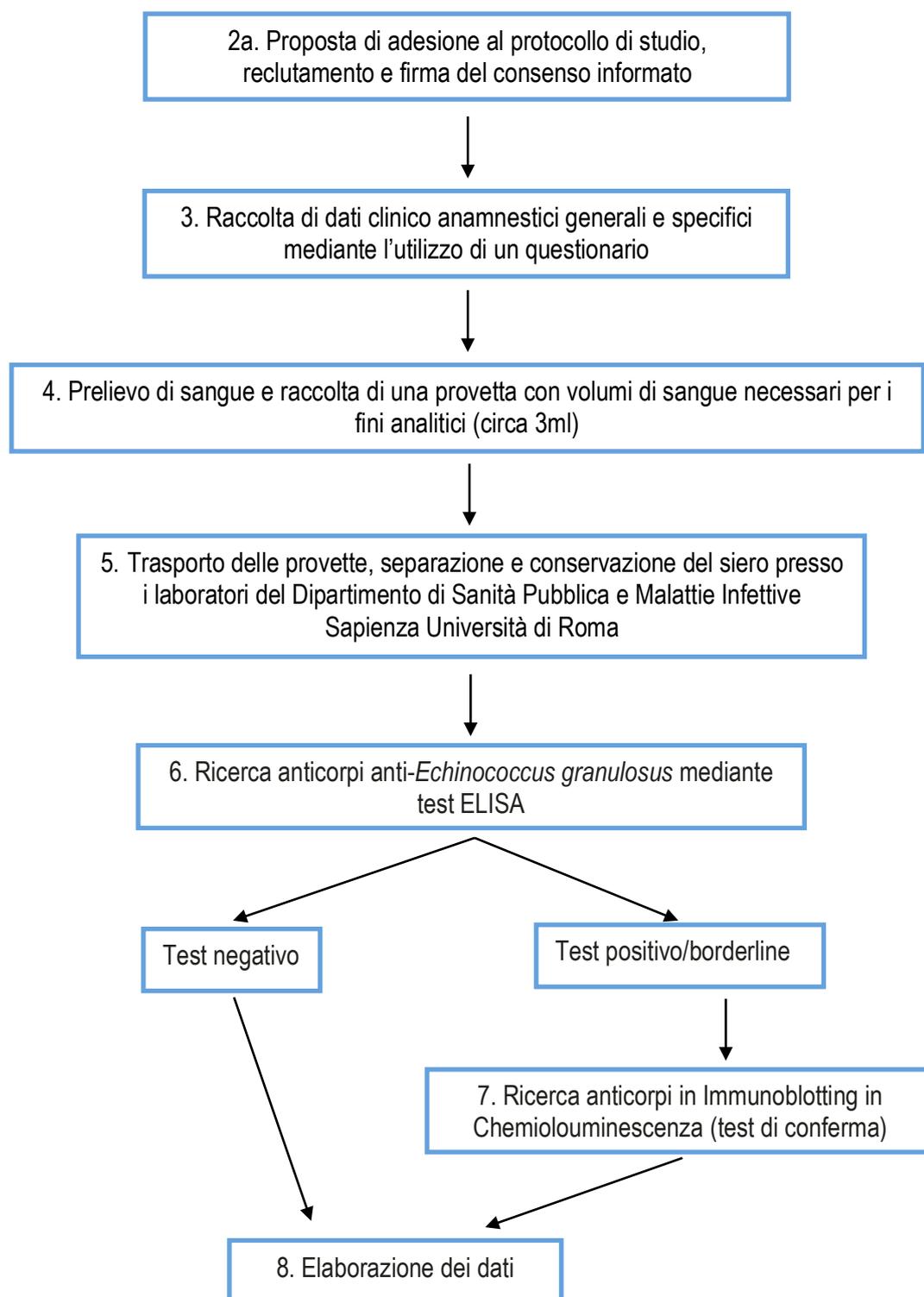


Figura 21 - Schema di studio per lavoratori potenzialmente esposti al rischio di Echinococcosi Cistica.

Fase 2b – Reclutamento di donatori di sangue afferenti al Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale – Ospedale San Camillo De Lellis - Azienda Sanitaria Locale di Rieti

Sono stati reclutati volontari apparentemente sani (donatori di sangue afferenti al Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale – Ospedale San Camillo De Lellis - Azienda Sanitaria Locale di Rieti), non esposti professionalmente al rischio biologico specifico. Lo Schema di studio utilizzato per il gruppo di donatori è mostrato nella flow chart successiva (Figura 22)

Fase 3. Raccolta di dati clinico anamnestici generali e specifici mediante l'utilizzo di un questionario

Ai soggetti reclutati durante la Fase 2 (a e b) verrà fornita una copia del questionario da compilare. Il questionario clinico-anamnestico è stato elaborato a seguito dell'analisi della letteratura, volto a conoscere i potenziali fattori di rischio per la trasmissione di *Echinococcus granulosus*. Lo strumento clinico-anamnestico era finalizzato ad ottenere dati generali (ad es. età anagrafica, genere, grado di istruzione etc.) e ad indagare la presenza di fattori di rischio lavorativi/extralavorativi correlati alla patologia oggetto di studio (ad es. anzianità lavorativa, residenza, provenienza, tipo di lavoro svolto, mezzi di prevenzione/protezione adottati, conoscenza della patologia, possesso e modalità di contatto con cani, gestione dei cani, gestione dei rifiuti, fornitura di acqua, pratiche di macellazione, etc.). Il questionario, la cui compilazione ha richiesto circa 15 minuti, è stato somministrato a tutti i partecipanti allo studio (Allegato A – lavoratori e Allegato B - donatori).

Fase 4. Raccolta e acquisizione, durante il prelievo di sangue (lavoratori) e durante la donazione di sangue/piastrine (donatori) di una provetta aggiuntiva con volumi di sangue necessari per i fini analitici (circa 3ml)

Durante il prelievo di sangue, effettuato presso l'azienda zootecnica (lavoratori), e durante la donazione di sangue/piastrine (donatori), effettuata presso il Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale (Ospedale San Camillo De Lellis - Azienda Sanitaria Locale di Rieti) e presso le sedi esterne di donazione previste, è stata raccolta e acquisita una provetta aggiuntiva (fornita dal Dipartimento di Sanità di Sanità

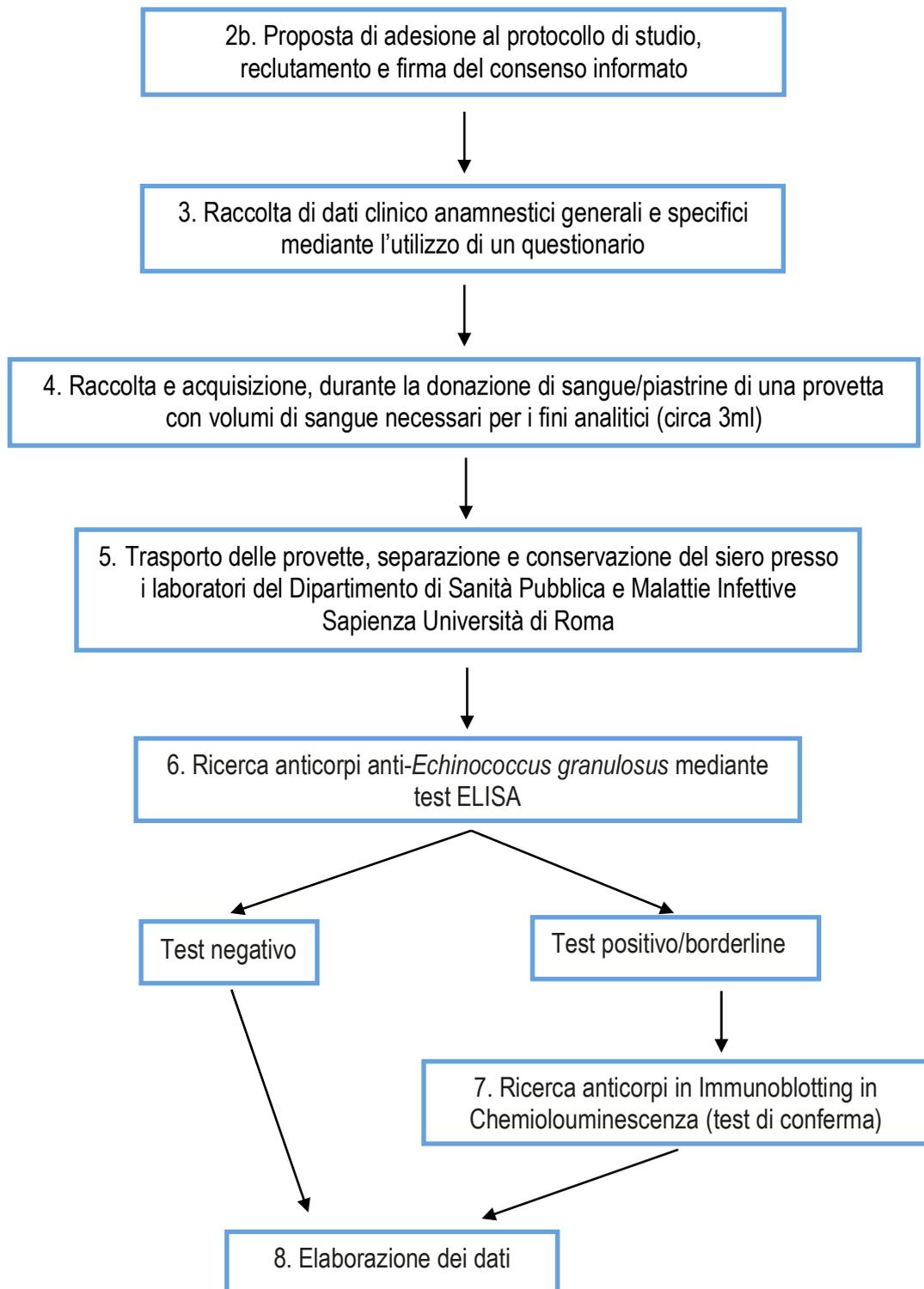


Figura 22 - Schema di studio per i donatori di sangue/piastrine.

e Malattie Infettive) con i volumi di sangue necessari per le finalità analitiche (circa 3ml).

Fase 5. Trasporto delle provette, separazione e conservazione del siero presso i laboratori del Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive – Sapienza Università di Roma

Le provette, entro le 24 ore dalla raccolta, sono state trasportate presso i laboratori del Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive, Sapienza Università di Roma (Sezione di Parassitologia E. Biocca), centrifugate e aliquotate in provette da congelamento a -20°C e conservate fino ad ulteriori analisi.

Fase 6. Ricerca di anticorpi anti-*Echinococcus granulosus* mediante ELISA

Dopo la raccolta di tutti i sieri necessari al progetto di ricerca, è stata effettuata la loro analisi, presso i laboratori del Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive, Sapienza Università di Roma (Sezione di Parassitologia E. Biocca), mediante la ricerca di anticorpi (IgG) anti *Echinococcus granulosus* (ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Per lo studio è stato utilizzato il test kit Echinococcosis Ab prodotto dalla Cypress Diagnostics (BE). Tale test è stato scelto perché utilizzato presso il Centro di referenza nazionale per l'Echinococcosi - IZS della Sardegna, come indicato dal Ministero della Salute italiano. La sensibilità e specificità riportati dalla Cypress Diagnostics a seguito di un confronto con altri test ELISA è pari rispettivamente al 100% e 100%.

Il test commerciale *Echinococcus*-Antibody ELISA (Cypress Diagnostic) è stato eseguito come indicato dalle istruzioni dei produttori. Questo è un test immuno-enzimatico che utilizza antigeni solubili di *Echinococcus* inattivato legati alla superficie delle piastre di micro-titolazione e rileva anticorpi (IgG totali) anti-*Echinococcus granulosus*. Le prove sono state lette a 450nm in uno spettrofotometro, come indicato dai produttori, per la valutazione della Densità Ottica (OD) di ogni singolo pozzetto (Figura 23). Tutti i test sono stati eseguiti in parallelo con un controllo positivo e due controlli negativi. Al fine di ottenere il valore di cut-off del test è stata calcolata la media dei valori di OD dei due controlli negativi, è stato aggiunto il valore di 0,150 fornito dalla ditta produttrice e calcolati i valori di ogni singolo campione (la OD di ogni singolo campione è stata divisa

per il valore di cut-off ottenuto). Il test ELISA è stato considerato negativo se i valori dei singoli campioni è risultato <0.9 , tra $0,9-1,0$ borderline e positivo se il valore era >1 .

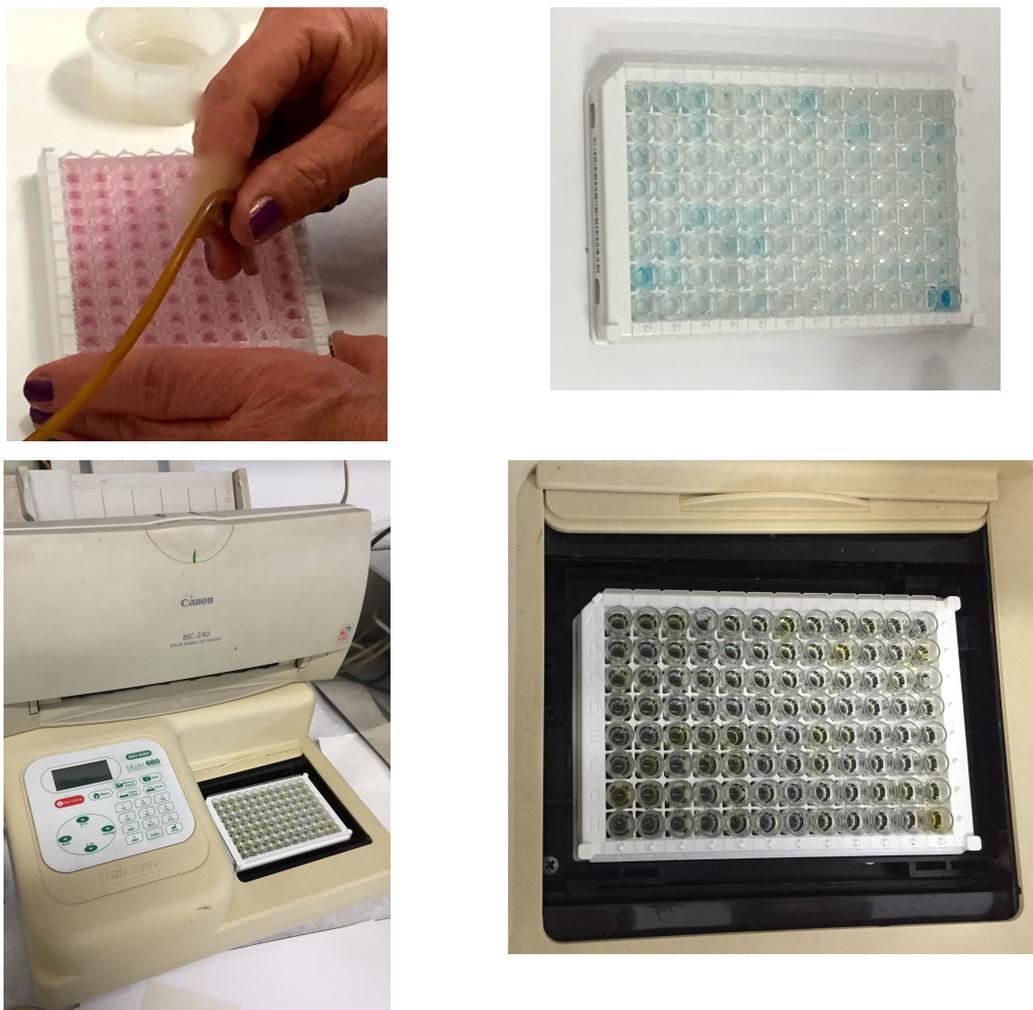


Figura 23 – Fasi di esecuzione del test ELISA: 1: anticorpo coniugato dispensato nei pozzetti; 2: substrato/cromogeno (precipitato di colore blu) dispensato nei pozzetti; 3 e 4: lettura spettrofotometrica.

Fase 7. Ricerca di anticorpi in Immunoblotting in Chemiluminescenza

Sui sieri risultati positivi/borderline sono stati ricercati gli anticorpi anti *Echinococcus granulosus* in Immunoblotting in Chemiluminescenza attraverso il test kit *Echinococcus* Western Blot IgG, fornito dalla LDBIO Diagnostics. Il test è stato eseguito secondo le istruzioni del produttore e, a seguito delle procedure di analisi, è stata effettuata la lettura delle strisce di nitrocellulosa (dei campioni e del controllo positivo) (Figura 24).

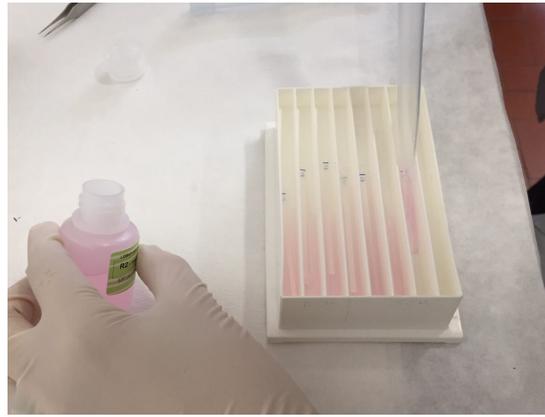


Figura 24 – Fase operativa: aggiunta di soluzione tampone (*sample buffer* - R2) nei canali del supporto contenenti le strisce di nitrocellulosa

Il test utilizza come antigene l'estratto completo della forma larvale di *E. multilocularis*. I sieri di soggetti con echinococcosi riconoscono specificamente antigeni con dimensioni molecolari inferiori a 30 kDa. La presenza di una banda a 7 kDa e/o una banda da 26-28 kDa è indicativa della presenza di immunoglobuline tipo G (IgG) specifiche di *Echinococcus* nel siero. Le bande a 7, 12, 15, 24 e 26-28 kDa sono condivise da entrambe le specie di *Echinococcus*. Sieri di echinococcosi cistica si legano specificamente a un componente da 16 a 18 kDa come una banda larga. I sieri di echinococcosi alveolare si legano specificamente agli antigeni di 16, 17, 18 e 20 kDa, come bande strette (Fig. 1). Sono descritti cinque pattern (P).

- P1 (banda a 7 kDa) e P2, (almeno una banda a 7 e una da 16 a 18 kDa) sono considerate specifiche per l'echinococcosi cistica.
- P3, comprendente almeno una banda a 26-28 kDa più due bande strette a 16 e 18 kDa, e P4, che comprende solo una banda da 26 a 28 kDa, sono considerati specifici per l'echinococcosi alveolare.
- P5, che comprende le bande a 7 e da 26 a 28 kDa, senza bande intermedie.

La sensibilità del test, come riportato dall'azienda produttrice è pari al 97,3% per il genere *E. granulosus*, mentre la specificità, sulla base di 147 sieri analizzati, raggiunge il 95%.

I risultati positivi sono stati comunicati per il tramite del medico curante, per eventuali indagini di secondo livello.

Fase 7a. Elaborazione dei dati e analisi statistica

Per analizzare i dati è stato utilizzato il programma di statistica Statistical Package for Social Science (SPSS) versione 19. I dati del questionario clinico-anamnestico e del test ELISA, in forma anonima, sono stati inseriti su foglio elettronico e successivamente analizzati. In caso di assenza di risposta ad uno degli item, l'unità statistica non è stata considerata nella specifica elaborazione.

Sono state prese in esame in primo luogo le variabili qualitative, in particolare: 1) genere; 2) comune di domicilio; 3) conoscenza dell'idatidosi; 2) possesso di cani; 3) iscrizione all'anagrafe canina dei propri cani; 4) abitudine a dare come cibo ai propri cani avanzi alimentari; 5) profilassi del cane con farmaci antielmintici; 6) abitudine a bere acqua di fonte; 7) abitudine al lavaggio di ortaggi/verdure crudi con bicarbonato o altro prodotto; 8) abitudine al lavaggio delle mani prima di consumare cibo. Tali variabili sono state descritte attraverso il calcolo delle frequenze assolute e percentuali in rapporto al risultato del test (negativo, positivo/borderline).

Al fine di ottenere un indice numerico sintetico che descrivesse il fenomeno abbiamo considerato come fattori di rischio (FR) le seguenti variabili dicotomiche: 1) mancata conoscenza dell'idatidosi (FR1); 2) possesso di cani (FR2); 3) mancata iscrizione all'anagrafe canina dei propri cani (FR3); 4) abitudine a dare come cibo ai propri cani avanzi alimentari (FR4); 5) mancata profilassi del cane con dei antielmintici (FR5); 6) abitudine a bere acqua di fonte (FR6); 7) mancanza di abitudine al lavaggio degli ortaggi/verdure crudi con bicarbonato o altro prodotto (FR7); 8) mancanza di abitudine al lavaggio delle mani prima di consumare cibo (FR8). L'indice numerico, che abbiamo chiamato "Indice di Rischio EC" (IREC), è stato ottenuto dalla somma degli 8 fattori di rischio considerati.

$$\text{IREC}=\text{FR1}+\text{FR2}+\text{FR3}+\text{FR4}+\text{FR5}+\text{FR6}+\text{FR7}+\text{FR8}$$

FR=Fattore di rischio

Il valore dei singoli fattori di rischio era:

- uguale a 1, se presente il FR;
- uguale a 0, se assente il FR;
- uguale a 0, se mancante la risposta.

Il range dell'IREC così ottenuto per ogni singolo partecipante allo studio aveva valori compresi tra 0 e 8.

Sono state prese in esame successivamente tutte le variabili quantitative, in particolare: a) età anagrafica, b) anzianità lavorativa nella mansione a rischio, c) numero di cani posseduti e d) la variabile IREC. Sono stati calcolati i valori medi delle variabili quantitative e, al fine di determinare la differenza tra le medie nei due gruppi (1. positivi-borderline e 2. negativi al test ELISA) è stato applicato il test t di Student. La differenza è stata ritenuta statisticamente significativa con $p < 0.05$.

Per la valutazione della significatività statistica tra la variabile numerica IREC e i due gruppi (1. positivi-borderline e 2. Negativi al test ELISA) è stato applicato il test del Chi-quadro, valutato come significativo con $p < 0.05$. Infine attraverso un modello di regressione logistica univariata è stato calcolato l'Odds Ratio (OR) per identificare l'associazione tra IREC e la risposta al test ELISA.

6. RISULTATI

Nel periodo luglio 2015 – luglio 2017 sono stati sottoposti al protocollo di studio un totale di 367 soggetti, tutti residenti nell'area indagata (regione Lazio - provincia di Rieti).

La popolazione residente in provincia di Rieti al Censimento del 2011 (Istituto Nazionale di Statistica) è risultata composta da 155.164 individui. In base ai dati dell'Anagrafe Nazionale Zootecnica al febbraio 2015 il numero totale di allevamenti e altre strutture per ovi-caprini era pari a 2.512 e il numero totale di capi ovi-caprini pari a 77.766.

6.1. Analisi del contesto epidemiologico

6.1.1. Presenza negli ospiti intermedi

La scelta dei Comuni da sottoporre ad indagine è avvenuta a seguito dell'analisi dei dati sugli animali (positività), ottenuti durante le attività di controllo al mattatoio da parte dei veterinari dell'Azienda Sanitaria Locale di Rieti (ASL).

La collaborazione con il Dipartimento di Prevenzione - Servizio Sanità Animale dell'Azienda USL di Rieti, come precedentemente anticipato, ha consentito di acquisire informazioni in merito al monitoraggio effettuato negli animali allevati nella zona di Rieti e provincia. Tra le diversificate attività svolte dal Dipartimento c'è la prevenzione e controllo delle zoonosi che, tra l'altro, vengono effettuate attraverso ispezioni per la ricerca di cisti di echinococco nelle carni destinate al consumo umano. Tale attività è svolta durante le ispezioni sanitarie, alla fine delle operazioni di macellazione.

La [Tabella XVI](#) mostra i dati animali verificati attraverso le attività di controllo al mattatoio (anni 2002-2014).

Sono stati esclusi dalla tabella i Comuni che presentavano, negli anni presi in considerazione, un numero di casi/anno inferiori o uguali ad 1. Questi Comuni sono: Cascia, Borgo Velino, Cantalupo, Colle di Tota, Colli, Coltodino, Forano, Micigliano, Mompeo, Montasola, Montebueno, Montenero S., Montefranco, Petriano, Poggio Ariano, Poggio Catino, Poggio Fidoni, Poggio Nativo, Roccasinibialda, Roccantica, Scandriglia, Selci, Villanova.

	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Accumuli	0	4	16	12	3	2	2
Amatrice	27	31	40	27	16	26	15
Antrodoco	3	1	1	1	2	2	8
Borbona	2	1	4	4	27	16	22
Borghose	1	7	4	5	16	16	13
Cantalice	2	0	2	2	0	0	0
Casperia	3	0	4	2	0	0	0
Cstel S. Angelo	0	3	0	3	1	6	1
Cittaducale	3	0	2	1	4	13	5
Cittareale	4	5	5	1	5	3	4
Collevecchio	0	1	1	2	4	3	4
Configni	1	0	1	2	2	2	1
Contigliano	5	10	14	12	8	4	7
Cottanello	0	1	1	4	6	6	6
Fara Sabina	0	2	0	3	2	1	1
Fiamignano	2	5	4	2	2	2	1
Greccio	0	0	1	13	2	2	2
Leonessa	47	59	76	63	85	76	84
Magliano S.	2	5	9	4	10	10	9
Monte S. Giovanni	2	1	4	4	0	0	0
Montopoli Sabino	0	1	2	0	3	3	2
Morro R.	1	2	1	1	2	0	0
Orvinio	4	1	3	2	0	1	0
Petrella Salto	0	2	1	0	2	0	0
Pescorocchiano	3	0	0	1	0	0	0
Poggio Bustone	0	2	1	3	1	1	1
Poggio Mirteto	1	1	0	0	4	2	12
Poggio Moiano	1	2	0	0	0	0	0
Posta	3	4	1	3	11	12	2
Pozzaglia	1	1	0	3	2	2	3
Rieti	4	13	8	23	8	13	6
Rivodutri	4	2	2	3	2	2	2
Salisano	0	0	1	1	2	2	2
Tarano	0	3	2	5	1	1	1
Torri in S.	1	1	3	0	2	1	3
Vacone	2	1	0	0	0	0	0

Tabella XVI – Dati di monitoraggio animale (ispezioni al mattatoio) – Numero di casi di EC segnalati. Valori assoluti. (Fonte: Dipartimento di Prevenzione - Servizio Sanità Animale dell’Azienda USL di Rieti).

In circa il 98% dei casi segnalati, la specie interessata è quella bovina. Ciò è dovuto alla sottosegnalazione dei casi ovini, come mostrato nella [Tabella XVII](#).

Inoltre la visita post mortem degli ovini, prevista dal Regolamento CE 854/04 (Sezione IV capo II), si limita al solo esame visivo di organi e visceri lasciando alla discrezione del veterinario l'esecuzione di ulteriori approfondimenti ispettivi ed accertamenti collaterali.

RIETI		2011		2012		2013		Prevalenza (2011-2013) (%)
BOVINI	MACELLATI	9153	3,90	8449	3,92	8235	4,27	4,03
	POSITIVI	357		331		352		
BUFALINI	MACELLATI	103	0,00	134	0,00	123	0,00	0,00
	POSITIVI	0		0		0		
CAPRINI	MACELLATI	109	4,59	194	0,00	453	1,10	1,32
	POSITIVI	5		0		5		
OVINI	MACELLATI	15206	0,49	16699	0,05	16938	0,41	0,31
	POSITIVI	74		8		70		

Tabella XVII – Prevalenza dei casi di EC nelle varie specie animali (casi segnalati durante la macellazione) nell'area di Rieti e provincia (Fonte: Scaramozzino, 2016).

La [Figura 25](#) mostra il *trend* dei casi di echinococcosi animale (prevalentemente bovini) verificati attraverso le attività di controllo al mattatoio (anni 2008-2014). L'analisi dei dati mostra una media di casi/anno maggiori (periodo 2008-2014) nelle seguenti aree: Leonessa media 70,0 casi/anno (sd=14,1), a seguire, Amatrice con 26,0 casi/anno (sd=8,6), Borbona con 10,9 casi/anno (sd=10,7), Rieti con 10,7 casi/anno (sd=6,4); Borgorose con 8,9 casi/anno (sd=6,1), Contigliano con 8,6 casi/anno (sd=3,6) e Magliano Sabino con 7,0 casi/anno¹² (sd=3,3).

Sulla base di questi dati sono state scelte i Comuni per lo sviluppo del progetto: due aree a maggior diffusione animale della patologia (Leonessa e Amatrice) e Comuni a minore diffusione della parassitosi (Longono Sabino, Roccasinibalda, Rieti ed altri).

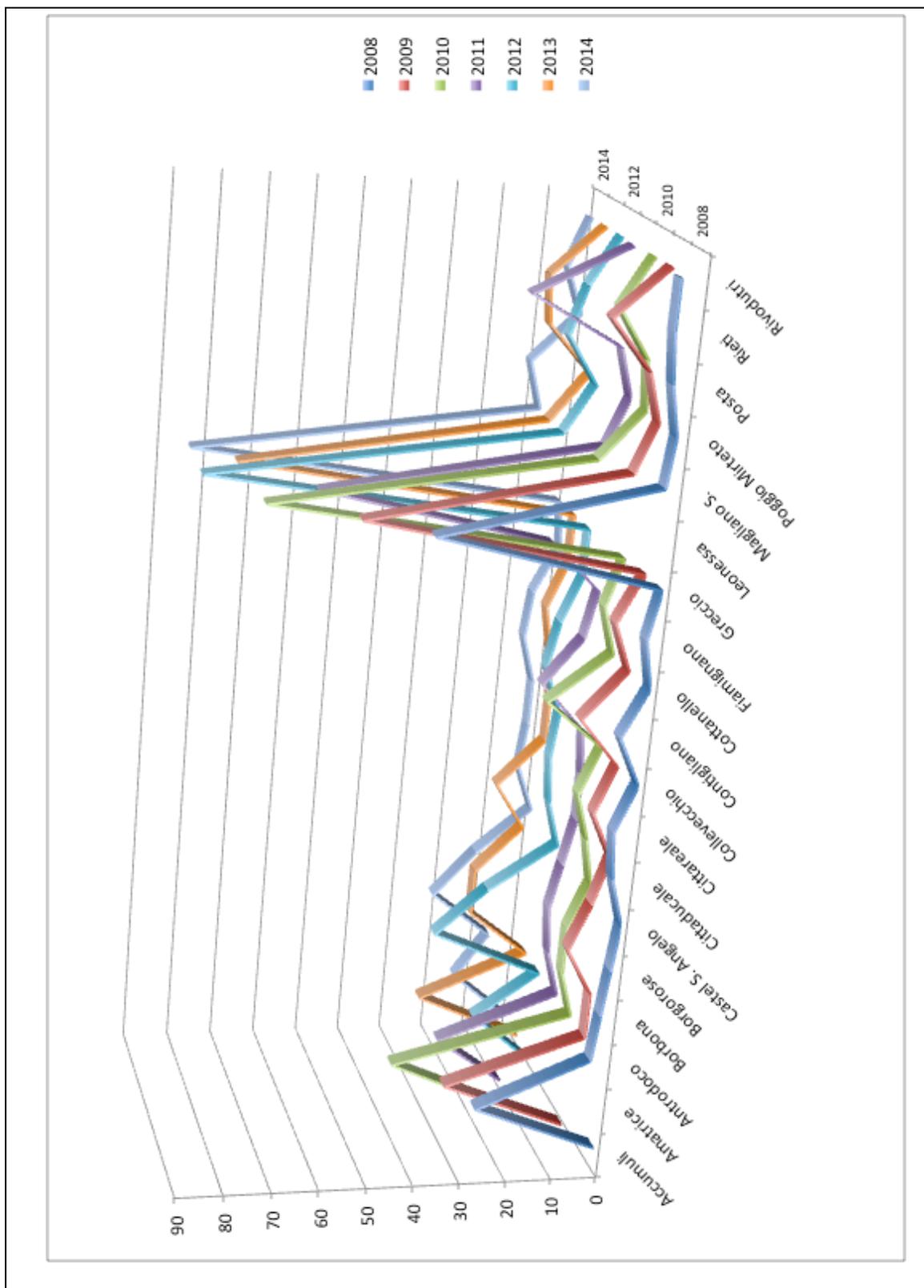


Figura 25 – Trend dei casi animali segnalati a seguito dell'ispezione veterinaria presso i mattatoi dell'area di Rieti (periodo 2008-2014) – Numero di casi nei singoli Comuni (provincia di Rieti) con una media di casi/anno superiore/uguale a 2.

6.1.2. *Casi registrati nell'uomo*

Attraverso la collaborazione attivata con la ASL di Rieti (Struttura Complessa Audit Clinico e Sistemi Informativi Sanitari e UOC Statistica Sanitaria e Determinanti della Salute), sono stati acquisiti i dati relativi alle schede di dimissione ospedaliera (SDO) della città e provincia, per il periodo 2000-2013, con codice di diagnosi correlato ad Echinococcosi Cistica (ICD-9-CM: 122.0 – 122.9).

Il numero di casi di EC nel periodo considerato (2000-2013) è risultato pari a 104, la loro distribuzione, anche ponderata per le stime di popolazione (ISTAT), è mostrata nella [Tabella XVIII](#). L'età media dei casi di EC era pari a 61,1 anni (sd±18,2). Dei 104 pazienti con EC, solo di 94 è stato possibile acquisire dati completi attraverso le SDO: 71 erano donne (68%) e 33 uomini (32%).

A seguito della mancata registrazione del fattore professionale, ottenuta l'autorizzazione (Comitato Etico Lazio 1 e Direzione Sanitaria del Presidio Ospedaliero San Camillo De' Lellis - Rieti), sono stati analizzati i dati delle cartelle cliniche. Il numero di casi di EC nel periodo considerato (2000-2013) di cui è stato possibile analizzare la cartella clinica, sono risultati pari a 69. L'età media dei casi era pari a 61,8 anni (sd±19,2). La distribuzione negli anni dei casi di EC, anche ponderata per le stime di popolazione (ISTAT), è mostrata nella [Tabella XVIII](#) che mostra anche i valori ottenuti con l'analisi dei dati SDO.

Dei 69 casi di EC 45 (65%) erano donne e 24 (35%) uomini. La provenienza dei casi era: in 59 casi (86%) italiana; in 4 casi (6%) macedone; in 3 casi (4%) rumena; in 2 casi (3%) tunisina e in 1 caso (1%) turca. 37 pazienti con EC vivevano in ambiente rurale (62,7%) e 22 (37,3%) in ambiente urbano. La localizzazione della lesione era: in 61 casi (88,4%) epatica e in 8 casi (11,6%) polmonare. L'anamnesi lavorativa con dettaglio dell'attività svolta era presente solo in 1 caso.

A seguito dell'autorizzazione da parte del Comitato Etico Lazio 1 è stato richiesto ai medici di base di acquisire alcuni dati mancanti (attività lavorativa pregressa e attuale a rischio, possesso di cani, numero di cani, domiciliazione in ambiente rurale o urbano, attività familiare a rischio) ottenuti per 16 pazienti.

Dei 16 pazienti: 9 (56,2%) svolgevano attività lavorative a rischio (6 allevatori, 2 agricoltori, 1 macellaio) e 8 attività lavorative non a rischio. Degli 8 pazienti con anamnesi lavorativa negativa (non a rischio), 4 (25,0%) riferivano che in famiglia erano

presenti attività lavorative familiari a rischio (3 attività di zootecnia e 1 attività di macelleria). Quindi 81,2% dei pazienti svolgevano, come attività principale o a supporto dell'azienda familiare, attività lavorative a rischio.

Dei 16 pazienti 15 pazienti (93,7%) con EC possedevano cani ma il numero dei cani non era stato precisato. In nessuno dei casi era stata fatta denuncia di malattia professionale (Fonte dati: Open Data INAIL).

ANNO	ABITANTI RESIDENTI	N. CASI DI EC SU RIETI E PROVINCIA (Dati SDO)	N. CASI DI EC SU RIETI E PROVINCIA (Dati CC)	INCIDENZA/10 ⁻⁵ ABITANTI (Dati SDO)	INCIDENZA/10 ⁻⁵ ABITANTI (Dati CC)
2000	43641	6	6	4,1	4,1
2001	43788	4	4	2,7	2,7
2002	44453	4	3	2,7	2,0
2003	46515	3	2	2,0	1,3
2004	46834	10	5	6,5	3,3
2005	47050	13	7	8,4	4,5
2006	47086	21	13	13,6	8,4
2007	47617	4	3	2,6	1,9
2008	47654	7	7	4,4	4,4
2009	47780	10	6	6,3	3,8
2010	47774	9	6	5,6	3,7
2011	46075	2	1	1,3	0,6
2012	47153	8	4	5,1	2,6
2013	47912	2	2	1,3	1,3

Tabella XVIII – Dati SDO e Dati CC (cartelle cliniche) - Distribuzione di casi di EC (periodo 2000-2013): stime di popolazione, numero di casi e numero di casi ponderato in base alle stime di popolazione ISTAT. Valori assoluti.

Il trend dei casi registrati (periodo 2000-2013) tramite SDO e acquisiti tramite analisi delle cartelle cliniche è mostrata in figura 26.

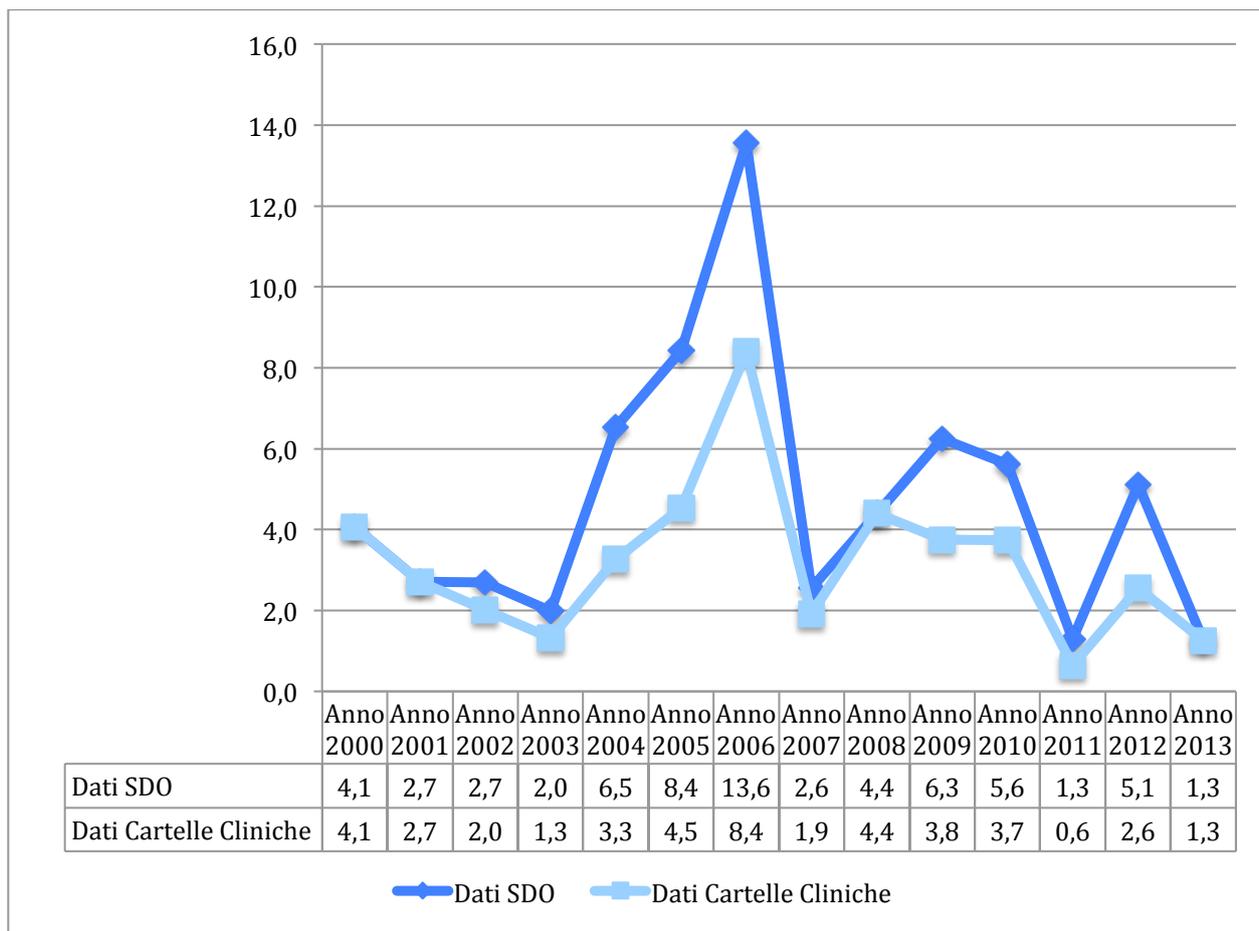


Figura 26 - Casi di EC/100.000 abitanti nel periodo 2000-2013 su Rieti e provincia (fonte dati: SDO e cartelle cliniche).

6.2. Indagine nel territorio di Rieti: applicazione del protocollo di studio

6.2.1. Caratteristiche socio-demografiche del campione

Lo studio ha incluso 367 soggetti: 176 lavoratori esposti a rischio biologico potenziale da *Echinococcus granulosus* (pastori) e 191 volontari apparentemente sani (donatori di sangue afferenti al Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale – Ospedale San Camillo De Lellis - Azienda Sanitaria Locale di Rieti), non esposti professionalmente al rischio biologico specifico.

Le caratteristiche socio-demografiche del campione sottoposto a studio sono mostrate nella [Tabella XIX](#).

	LAVORATORI	DONATORI	TOTALI
NUMERO	191	176	367
ETÀ ANAGRAFICA			
Valore Medio (sd) (anni)	52,8 (sd=16,6)	41,6 (sd=11,3)	47,0 (sd=15,2)
ANZIANITÀ LAVORATIVA			
Valore Medio (sd)	31,5 (sd=17,7)	20,1 (sd=11,3)	28,1 (sd=16,7)
DONNE			
Valore assoluto (%)	59 (33,5%)	44 (23,0%)	103 (28,1%)
UOMINI			
Valore assoluto (%)	117 (66,5%)	147 (77,0%)	264 (71,9%)

Tabella XIX - Caratteristiche socio-demografiche del campione sottoposto a studio.

I 176 lavoratori appartenevano ad 83 micro-imprese (numero medio di lavoratori pari a 2; minimo=1, massimo=6). Le aziende a conduzione familiare possedevano un numero minimo di capi di bestiame (ovini) pari a 5.

Dei 176 lavoratori tutti (100,00%) hanno riferito di abitare in ambiente rurale, mentre, dei 191 donatori, il 32,5% hanno riferito di abitare in aree urbane e il 67,5 % in aree rurali.

6.2.2. Dati sierologici e clinico-anamnestici

I risultati del test ELISA sono mostrati in [Tabella XX](#): come si può vedere i soggetti risultati positivi/borderline tra i lavoratori esposti sono il 5,7%, mentre tra i donatori sono il 4,2%.

	NUMERO DI POSITIVI/BORDERLINE	%	NUMERO DI NEGATIVI	%
LAVORATORI	10	5,7 (IC 2,3-9,1)	166	94,3 (IC 90,9-97,7)
DONATORI	8	4,2 (IC 1,3-7,0)	183	95,8 (IC 93,0-98,7)

Tabella XX - Risultati del test ELISA (*Echinococcus*-Antibody ELISA Cypress Diagnostic) e gruppo di appartenenza (lavoratori vs donatori).

Come da protocollo, i sieri risultati positivi-borderline al test ELISA sono stati sottoposti al test di conferma in Western Blot ([Figura 27](#)).

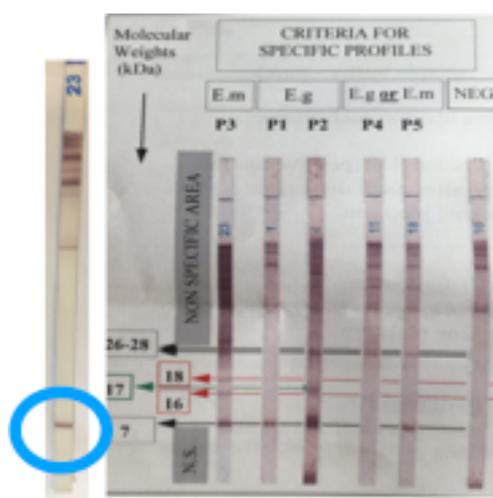


Figura 27 – Positività al test di conferma (test kit *Echinococcus* Western Blot IgG - LDBIO Diagnostics).

La distribuzione dei positivi/borderline all'interno del gruppo di lavoratori per comune di appartenenza sono mostrati nella [Tabella XXI](#): è possibile notare, in ordine decrescente, che i soggetti sieropositivi del Comune di Leonessa sono 11,8%, a seguire

quelli del Rieti (5,6%), quindi quelli del Comune di Amatrice (5,2%), di Roccasinibalda e Longone Sabino (0,0%).

COMUNE	TEST POSITIVI/BORDERLINE (N)	TEST NEGATIVI (N)	% DI POSITIVI/BORDERLINE
LEONESSA	6	51	10,5 (IC 2,6-18,5)
AMATRICE	3	58	4,9 (IC 0,0-10,3)
RIETI	1	18	5,3 (IC 0,0-15,3)
ROCCA SINIBALDA	0	24	0,0
LONGONE SABINO	0	12	0,0

Tabella XXI - Distribuzione dei positivi al test ELISA, all'interno del gruppo di lavoratori, per comune di appartenenza. Valori assoluti e percentuali (tra i test positivi).

La distribuzione dei positivi/borderline in rapporto alla differenza di genere nel gruppo dei lavoratori e dei donatori sono riportati rispettivamente in **Tabella XXII**.

		LAVORATORI		DONATORI	
		DONNA V.A. (%)	UOMO V.A. (%)	DONNA V.A. (%)	UOMO V.A. (%)
TEST ELISA	POSITIVI/BORDERLINE	2 (20,0)	8 (80,0)	2 (25,0)	6 (75,0)
	NEGATIVI	57 (34,3)	109 (65,7)	42 (23,0)	141 (77,0)
TOTALI		59 (33,5)	117 (66,5)	44 (23,0)	147 (77,0)

Tabella XXII - Distribuzione dei positivi al test ELISA, all'interno del gruppo di lavoratori, per genere. Valori assoluti e percentuali (tra i test positivi).

I risultati del test ELISA in rapporto al livello di istruzione nel gruppo dei lavoratori e dei donatori sono riportati in rispettivamente in **Tabella XXIII** e **Tabella XXIV**.

DONATORI	TOTALE VA (%)	POSITIVI/BORDERLINE V.A. (%)	NEGATIVI V.A. (%)
Scuola Primaria	48 (28,6)	4 (8,3)	44 (91,7)
Scuola Secondaria	50 (29,8)	5 (10,0)	45 (90,0)
Diploma di scuola superiore	66 (39,3)	1 (1,5)	65 (98,5)
Laurea	4 (2,4)	0 (0,0)	4 (100,0)
Post-laurea	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

Tabella XXIII – Livello di istruzione in rapporto al risultato del test ELISA nel gruppo dei lavoratori. Valori assoluti (V.A.) e percentuali (%).

LAVORATORI	TOTALE V.A. (%)	POSITIVI/BORDERLINE V.A. (%)	NEGATIVI V.A. (%)
Scuola Primaria	2 (1,0)	0 (0,0)	2 (100,0)
Scuola Secondaria	42 (22,0)	3 (7,1)	39 (92,9)
Diploma di scuola superiore	120 (62,9)	3 (2,5)	117 (97,5)
Laurea	27 (14,1)	2 (7,4)	25 (92,6)
Post-laurea	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

Tabella XXIV – Livello di istruzione in rapporto al risultato del test ELISA nel gruppo dei donatori. Valori assoluti (V.A.) e percentuali (%).

Sono state prese in esame le ulteriori variabili qualitative, in particolare: conoscenza dell'idiatidiosi; possesso di cani; iscrizione all'anagrafe canina dei propri cani; profilassi del cane con farmaci antielmintici; abitudine a bere acqua di fonte; abitudine al lavaggio di ortaggi/verdure crudi con bicarbonato o altro prodotto; abitudine al lavaggio delle mani prima di consumare cibo. Tali variabili sono state descritte attraverso il calcolo delle frequenze assolute e percentuali in rapporto al risultato del test (negativo, positivo). I risultati del test ELISA in rapporto alla conoscenza riferita (SI/NO) dell'idiatidiosi sono riportati in [Tabella XXV](#).

		LAVORATORI		DONATORI	
		SI V.A. (%)	NO V.A. (%)	SI V.A. (%)	NO V.A. (%)
TEST ELISA	POSITIVI/ BORDERLINE	2 (20,0)	8 (80,0)	1 (12,5)	7 (87,5)
	NEGATIVI	63 (38,9)	103 (62,0)	24 (13,1)	159 (86,9)
TOTALI		65 (36,9)	111 (63,1)	25 (13,1)	166 (86,9)

Tabella XXV – Risultati del test ELISA in rapporto alla conoscenza riferita (SI/NO) dell'idatidosi nel gruppo dei lavoratori/donatori. Valori assoluti (V.A.) e percentuali (%).

I risultati del test ELISA in rapporto al possesso riferito di cani (SI/NO) sono riportati in [Tabella XXVI](#).

		LAVORATORI		DONATORI	
		SI V.A. (%)	NO V.A. (%)	SI V.A. (%)	NO V.A. (%)
TEST ELISA	POSITIVI/ BORDERLINE	9 (90,0)	1 (10,0)	3 (37,5)	5 (62,5)
	NEGATIVI	159 (95,2)	8 (4,8)	85 (45,5)	102 (54,5)
TOTALI		168 (94,9)	9 (5,1)	88 (45,1)	107 (54,9)

Tabella XXVI – Risultati del test ELISA in rapporto al possesso riferito dei cani (SI/NO) nel gruppo dei lavoratori/donatori. Valori assoluti (V.A.) e percentuali (%).

I risultati del test ELISA in rapporto all'iscrizione all'anagrafe canina dei propri cani (SI/NO) (riferita) sono riportati in [Tabella XXVII](#).

		LAVORATORI		DONATORI	
		SI V.A. (%)	NO V.A. (%)	SI V.A. (%)	NO V.A. (%)
TEST ELISA	POSITIVI/ BORDERLINE	3 (33,3)	6 (66,7)	2 (66,7)	1 (33,3)
	NEGATIVI	71 (45,5)	85 (54,5)	73 (86,9)	11 (13,1)
TOTALI		74 (44,8)	91 (55,2)	75 (86,2)	12 (13,8)

Tabella XXVII – Risultati del test ELISA in rapporto all’iscrizione all’anagrafe canina dei propri cani (SI/NO) (riferita) nel gruppo dei lavoratori/donatori. Valori assoluti (V.A.) e percentuali (%).

I risultati del test ELISA in rapporto all’abitudine riferita alla profilassi del proprio cane con farmaci antielmintici (SI/NO) sono riportati in [Tabella XXVIII](#).

		LAVORATORI		DONATORI	
		SI V.A. (%)	NO V.A. (%)	SI V.A. (%)	NO V.A. (%)
TEST ELISA	POSITIVI/ BORDERLINE	1 (12,5)	7 (87,5)	0 (0,0)	0 (0,0)
	NEGATIVI	28 (20,0)	112 (80,0)	22 (78,6)	6 (21,4)
TOTALI		29 (19,6)	119 (80,4)	22 (78,6)	6 (21,4)

Tabella XXVIII – Risultati del test ELISA in rapporto all’abitudine riferita alla profilassi del proprio cane con farmaci antielmintici (SI/NO) nel gruppo dei lavoratori/donatori. Valori assoluti (V.A.) e percentuali (%).

I risultati del test ELISA in rapporto all’abitudine riferita a bere acqua di fonte (SI/NO) sono riportati in [Tabella XXIX](#).

		LAVORATORI		DONATORI	
		SI V.A. (%)	NO V.A. (%)	SI V.A. (%)	NO V.A. (%)
TEST ELISA	POSITIVI/ BORDERLINE	8 (80,0)	2 (20,0)	4 (50,0)	4 (50,0)
	NEGATIVI	2 (2,0)	97 (98,0)	36 (19,7)	147 (80,3)
TOTALI		10 (9,2)	99 (90,8)	40 (20,9)	151 (79,1)

Tabella XXIX – Risultati del test ELISA in rapporto all’abitudine riferita a bere acqua di fonte (SI/NO) nel gruppo dei lavoratori/donatori. Valori assoluti (V.A.) e percentuali (%).

I risultati del test ELISA in rapporto all’abitudine riferita al lavaggio di ortaggi/verdure crudi con bicarbonato o altro prodotto (SI/NO) sono riportati in [Tabella XXX](#).

		LAVORATORI		DONATORI	
		SI V.A. (%)	NO V.A. (%)	SI V.A. (%)	NO V.A. (%)
TEST ELISA	POSITIVI/ BORDERLINE	2 (20,0)	8 (80,0)	0 (0,0)	8 (100,0)
	NEGATIVI	36 (22,2)	126 (77,8)	29 (15,9)	154 (84,1)
TOTALI		38 (22,1)	134 (77,9)	29 (15,2)	162 (84,8)

Tabella XXX – Risultati del test ELISA in rapporto all’abitudine riferita al lavaggio di ortaggi/verdure crudi con bicarbonato o altro prodotto (SI/NO) nel gruppo dei lavoratori/donatori. Valori assoluti (V.A.) e percentuali (%).

I risultati del test ELISA in rapporto all’abitudine riferita al lavaggio delle mani prima di consumare cibo (SI/NO) sono riportati in [Tabella XXXI](#).

		LAVORATORI		DONATORI	
		SI V.A. (%)	NO V.A. (%)	SI V.A. (%)	NO V.A. (%)
TEST ELISA	POSITIVI/ BORDERLINE	6 (60,0)	4 (40,0)	5 (62,5)	3 (37,5)
	NEGATIVI	74 (46,0)	87 (54,0)	54 (29,5)	129 (70,5)
TOTALI		80 (46,8)	91 (53,2)	59 (30,9)	132 (69,1)

Tabella XXXI – Risultati del test ELISA in rapporto all’abitudine riferita al lavaggio delle mani prima di consumare cibo (SI/NO) nel gruppo dei lavoratori/donatori. Valori assoluti (V.A.) e percentuali (%).

A seguito della richiesta di conoscenza o meno di casi di echinococcosi cistica tra conoscenti e parenti, il 6,8% dei lavoratori riferisce di conoscere casi pregressi: 6 casi svolgevano attività di allevatore (pastore), 2 casi attività di veterinario, 1 caso attività di macellaio, 1 caso attività di insegnante e 3 casi non ricordavano l’attività lavorativa svolta conoscente affetto da EC. Un lavoratore ha riferito di avere avuto diagnosi pregressa di EC (localizzazione epatica, trattamento chirurgico/farmacologico: cistectomia).

In riferimento al possesso di cani, il numero medio di cani posseduti è risultato pari a 5,1 (sd 4,3; range 1–20). Circa il 9,6% dei lavoratori (pastori) sottoposti ad indagine riferisce di dare ai propri cani i residui di macellazione crudi.

I valori medi delle variabili quantitative e l’applicazione del test t di Student sono riportati in [Tabella XXXII](#).

	Test positivi- borderline/negativi	N	Media	Deviazione standard	t	Df	Sig. (2 code)
Età anagrafica	Positivi-borderline	18	49,4	13,8	0,742	19,213	n.s.
	Negativi	348	46,9	15,3			
Anzianità lavorativa	Positivi-borderline	10	34,9	13,2	1,640	10.351	n.s.
	Negativi	224	27,8	16,8			
Numero di cani posseduti	Positivi-borderline	12	8,7	7,4	2,245	11,277	<0,05
	Negativi	242	3,9	3,7			
Indice di rischio	Positivi-borderline	18	5,3	2,2	2,213	18,147	<0,05
	Negativi	349	4,2	1,7			

Tabella XXXII - Variabili quantitative. Valori medi e test t di Student.

6.2.3. *Indice sintetico di rischio: IREC*

Al fine di ottenere un indice numerico sintetico che descrivesse il fenomeno abbiamo considerato come fattori di rischio (FR) le seguenti variabili dicotomiche: 1) mancata conoscenza dell'idatidosi (FR1); 2) possesso di cani (FR2); 3) mancata iscrizione all'anagrafe canina dei propri cani (FR3); 4) abitudine a dare come cibo ai propri cani avanzi alimentari (FR4); 5) mancata profilassi del cane con dei antelmintici (FR5); 6) abitudine a bere acqua di fonte (FR6); 7) mancanza di abitudine al lavaggio degli ortaggi/verdure crudi con bicarbonato o altro prodotto (FR7); 8) mancanza di abitudine al lavaggio delle mani prima di consumare cibo (FR8). L'indice numerico, che abbiamo chiamato "Indice di Rischio EC" (IREC), è stato ottenuto dalla somma degli 8 fattori di rischio considerati.

$$IREC=FR1+FR2+ FR3+FR4+ FR5+FR6+ FR7+FR8$$

FR=Fattore di rischio

Il valore dei singoli fattori di rischio era:

- uguale a 1, se presente il FR;
- uguale a 0, se assente il FR;
- uguale a 0, se mancante la risposta.

Il range dell'IREC così ottenuto per ogni singolo partecipante allo studio aveva valori compresi tra 0 e 8.

Il calcolo dell'Odds Ratio (OR) e l'applicazione del test del Chi-quadro sulla variabile indice di rischio sono riportati in [Tabella XXXIII](#).

Variabile	Media	Deviazione Standard	OR	95%IC		Significatività
Indice di rischio	4,2	1,8	1,889	1,689	2,113	0,000

Tabella XXXIII – Indice di rischio. Calcolo OD e test del Chi-quadro.

7. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

In Italia non esiste un sistema di registrazione efficace dell'echinococcosi cistica, sebbene, sulla base della legislazione europea, tale patologia dovrebbe essere sottoposta a sorveglianza. In base ai dati disponibili l'incidenza della parassitosi risulta più alta nelle isole, nelle regioni centrali (ad es. Lazio) e in quelle meridionali, dove l'agricoltura e l'allevamento ovino sono attività ancora diffuse (Brundu et al., 2014; Garippa, 2006; Garippa e Manfredi., 2009; Petrone et al., 2013). L'EC è tradizionalmente considerata e inquadrata, in base alla normativa attuale, come malattia professionale: l'attività lavorativa in alcuni settori, in particolare quello agro-zootecnico, sembra essere un importante fattore di rischio (Moro e Schantz, 2009).

Il nostro studio ha avuto come obiettivo quello di descrivere il fenomeno zoonosico dell'EC nelle aree rurali italiane della regione Lazio, in particolare nella provincia di Rieti, tramite l'utilizzo delle fonti dati esistenti (dati SDO, cartelle cliniche e dati sul monitoraggio effettuato negli animali allevati nella stessa area), la determinazione della sieroprevalenza di EC in lavoratori potenzialmente esposti al rischio e la valutazione dei fattori di rischio occupazionali ed extralavorativi attraverso la proposta e applicazione di uno modello e strumento specifico di valutazione dei rischi per i lavoratori del settore agro-zootecnico.

La valutazione del contesto epidemiologico, condotta in primo luogo attraverso l'analisi delle ispezioni animali presso il mattatoio (ospiti intermedi), mostra, una sottosegnalazione dei casi nei capi ovi/caprini. Ciò è probabilmente dovuto al fatto che spesso i visceri ovini vengono scartati per motivi economici (non viene eseguita l'ispezione e quindi non viene segnalato il caso) e, in molti casi, vi è una mancata registrazione dei casi da parte degli operatori.

La macellazione "domestica" degli ovini, molto diffusa in Italia (Scala et al., 2004), potrebbe consentire un facile accesso, per cani domestici e selvatici, agli organi parassitati di questi ruminanti, consentendo il persistere del ciclo di vita del parassita. In questo modo gli ovini rappresentano i principali *reservoir* di *E. granulosus* (Romig, 2003; Scala et al., 2004; Daryani et al., 2007). Di contro, in Italia, gli altri ospiti intermedi, rappresentati da bovini ed i bufali, sono per lo più allevati in modo intensivo e la macellazione illegale è di norma assente; inoltre questi animali vengono macellati in strutture moderne ed efficienti, dove gli organi parassitati vengono distrutti e dove

la presenza dei cani è assolutamente vietata. Per queste ragioni è molto difficile che i cani e/o altri canidi possano ingerire organi infetti di bovini e/o bufali.

A questo proposito, la raccolta di dati epidemiologici più accurati e precisi presso i mattatoi su ovini infestati, vista l'importanza in qualità di ospite intermedio del parassita, come la classe d'età (giovani vs adulti) e l'origine geografica, potrebbe contribuire al miglioramento della sorveglianza di EC (Possenti et al., 2016; Larrieu et al., 2002; Otero-Abad e Torgerson, 2013).

Il quadro epidemiologico dell'echinococcosi cistica nell'uomo nella stessa area (Rieti e provincia), come mostrato dall'analisi dei dati provenienti dalle schede di dimissione ospedaliera e dall'analisi dei dati delle cartelle cliniche, non è semplice da definire, soprattutto a causa della latenza, spesso lunga, tra infestazione e diagnosi. I dati dell'area di Rieti mostrano, in sintesi: a) un trend variabile negli anni, con lieve riduzione non significativa (picco nel 2006) che mostra come EC sia ancora un problema di salute pubblica; b) un lieve aumento dell'incidenza nelle aree rurali, in particolare dove risulta marcato lo sviluppo dell'allevamento ovino; c) la presenza di casi di EC nell'uomo anche in zone in cui la pastorizia non è sviluppata, probabilmente a causa di fattori socio-ecologici (ad es. la transumanza, un elevato numero di cani randagi, la presenza di cicli naturali, il clima e condizioni ambientali adeguate alla sopravvivenza delle uova); d) casi di EC in pazienti con età avanzata, molto probabilmente a cauda del decorso cronico della patologia (EC può essere rilevato, per caso, anni dopo l'infestazione iniziale); e) la facilità di utilizzo delle SDO per scopi epidemiologici, sebbene il sistema delle SDO, come mostrato in letteratura, non possa in alcun modo sostituire un sistema di sorveglianza efficace. Molti sono infatti i limiti di tale strumento informativo, come mostrato dai dati di letteratura: a) parte dei casi vengono gestiti in ambiente ambulatoriale e sfuggono alla registrazione (Caremani et al., 1993); b) i sistemi di sorveglianza nazionale di EC in Europa risultano eterogenei (Pardo et al., 2005); c) esiste ambiguità nella discriminazione tra casi autoctoni e casi importati e tra casi nuovi e riammessi con possibilità di duplicazione di dati (ad es. a causa della cronicità di EC e delle recidive); d) esclusione, in alcune elaborazioni specifiche, di dati in cui si rilevano errori; e) mancanza di raccolta di alcuni dati (caratteristiche delle cisti o esiti di terapia, analisi del dettaglio dei costi di malattia, mancanza di registrazione del fattore professionale e degli altri fattori di rischio). Anche l'analisi dei dati delle cartelle cliniche mostra un'assenza quasi totale del dato

professionale. In particolare, se presente, l'anamnesi lavorativa viene eseguita spesso da personale amministrativo che non registra la storia lavorativa completa e, se il soggetto è pensionato, non viene specificata l'attività lavorativa pregressa. I dati risultano quindi di difficile utilizzo per uno studio più articolato del fenomeno. Il coinvolgimento dei medici di base dei singoli pazienti consente di raggiungere il dato professionale che mostra un importante legame tra attività lavorativa ed EC. Tuttavia l'assenza di denunce/riconoscimenti di EC quale malattia lavoro-correlata (dati INAIL del territorio) suggerisce una mancata conoscenza da parte del medico di questa parassitosi quale malattia professionale e la necessità dell'emersione del problema in accordo con il Piano Nazionale di Prevenzione 2014-2016 (sotto-segnalazione del fenomeno degli infortuni e delle malattie professionali o correlate al lavoro).

L'indagine sierologica condotta nella stessa area (lavoratori potenzialmente esposti e donatori), attraverso l'utilizzo del test ELISA mostra una percentuale pari al 5,7% di positivi tra i lavoratori e di 4,2% tra i donatori. Purtroppo, la scarsità e spesso difficile confrontabilità di dati presenti in letteratura, in particolare relativi a studi su popolazioni lavorative potenzialmente esposte, non consente un confronto con la sieroprevalenza mostrata nel nostro studio.

L'analisi dei dati relativi alla differenza di genere mostra una prevalenza di uomini positivi-bordeline al test ELISA, rispetto alle donne. Questo dato è in accordo con i dati di letteratura (Cappello et al., 2013; Zibaei et al., 2013; Fahim e Al Salamah, 2007; Culafic et al., 2007; Shambesh et al., 1999; Amr et al., 1994; El Marsfy e Morsy, 1975). Infatti lo studio condotto in Italia da Brundu et al. sull'esame retrospettivo delle schede di dimissione ospedaliera con codice di diagnosi EC correlato ha mostrato, attraverso l'analisi stratificata di genere, che l'incidenza di EC era significativamente più alta negli uomini rispetto alle donne (Brundu et al., 2014). Ciò probabilmente è dovuto al fatto che alcune attività eseguite dagli uomini nelle zone rurali, come la gestione e la manipolazione dei cani, potrebbero anche riflettere una maggiore esposizione al parassita.

La valutazione delle aree sottoposte ad indagine mostra che, nel Comune di Leonessa e in successione in quello di Amatrice, vi sono un numero maggiore di soggetti risultati positivi-borderline al test ELISA. Questo dato è in accordo con i dati di prevalenza negli ospiti intermedi (positività all'ispezione) ottenuti durante le attività di controllo al mattatoio da parte dei veterinari dell'Azienda Sanitaria Locale di Rieti (ASL).

La somministrazione del questionario mostra inoltre una bassa conoscenza della patologia (36,9% nei lavoratori e 13,1% nei donatori). Come mostrato in precedenti studi, la percentuale di soggetti che riferisce di non aver mai sentito parlare di EC è più alta tra i lavoratori/donatori che presentavano un risultato positivo-bordeline del test ELISA rispetto ai negativi (Kersting et al., 2009; Stull et al., 2013). Questo dato risulta importante in particolare in ambiti lavorativi a rischio, in cui è documentata la presenza di *Echinococcus granulosus* e i lavoratori risultano esposti ad un rischio biologico potenziale. La mancata informazione e formazione sulla zoonosi costituisce un fattore di rischio importante poiché non consente di lavorare in sicurezza mettendo in atto misure di prevenzione e buone prassi adeguate. Anche la normativa italiana a riguardo (articolo 21 del D.Lgs. 81 del 2008 e s.m.i.) sottolinea l'importanza della partecipazione a *“corsi di formazione specifici in materia di salute e sicurezza sul lavoro, incentrati sui rischi propri delle attività svolte”* dei *“componenti dell'impresa familiare, (...) i coltivatori diretti del fondo, i soci delle società semplici operanti nel settore agricolo”*, per modificare consapevolmente e durevolmente il comportamento di ogni lavoratore al fine di tutelare la propria salute.

I risultati suggeriscono inoltre che, in particolare all'interno del gruppo dei lavoratori, il numero elevato di cani posseduti, potenziali ospiti definitivi del parassita, costituisce, anche in accordo con gli studi precedenti, un elemento importante da valutare. Infatti il numero di cani e la loro cattiva gestione (mancata iscrizione all'anagrafe canina, mancata/non completa profilassi del cane con farmaci antielmintici, residui di macellazione dati crudi ai cani) sembrano essere associati ad una maggior esposizione al rischio (Schantz et al., 1995; Paolillo et al., 1991; Li et al., 2015; Possenti et al., 2016). In particolare, in riferimento all'abitudine di dare residui di macellazione (crudi) ai cani, l'indagine mostra che tale pratica è ancora presente. Circa il 9,6% dei lavoratori, dato sicuramente sottostimato, riferisce di mettere in atto tale procedura. Quindi, come mostrato in letteratura, la pratica della macellazione clandestina, che costituisce un fattore di rischio per l'idatidosi, è ancora diffusamente presente in Italia. Infatti, la vicinanza degli esseri umani agli animali presenti negli allevamenti, la macellazione domestica clandestina con insufficiente impianti per distruggere le frattaglie infette ai quali i cani hanno accesso libero e il numero elevato di cani da pascolo sono alcuni dei più importanti fattori che consentono la diffusione del CE nell'Europa meridionale (Garippa, 2006; Seimenis, 2003). Nell'area mediterranea ogni famiglia dedita

all'agricoltura possiede uno o più cani per la guardia, l'allevamento, la caccia e/o per compagnia. Questi animali nelle zone rurali possono essere nutriti e/o avere accesso libero al luogo in cui vengono macellati animali o dove sono le eventuali carcasse degli animali di allevamento. La possibilità per i cani di muoversi liberamente è uno dei fattori di maggior rischio comunemente riportati per l'infestazione da *E. granulosus* (Otero-Abad e Torgerson, 2013).

Oltre alla cattiva gestione del cane, anche l'abitudine a non mettere in atto norme igieniche adeguate (bere acqua di fonte, abitudine a non lavare gli ortaggi/verdure crudi con bicarbonato o altro prodotto, abitudine a non lavare le mani prima di consumare cibo) sembra essere maggiormente riferito dai soggetti che presentano un test ELISA positivo-borderline rispetto ai negativi. Ciò conferma la necessità di programmi di conoscenza del rischio e di addestramento a lavorare in sicurezza.

Il nostro studio inoltre mostra un'associazione tra l'indice sintetico di rischio-IREC e i risultati del test ELISA. Questo farebbe supporre che il questionario utilizzato nella nostra indagine potrebbe essere proposto quale strumento facile e agevole, per una preliminare valutazione del rischio EC in aziende potenzialmente esposte. Le aziende del ramo agro-zootecnico molto spesso presentano le caratteristiche delle micro-imprese a conduzione familiare, aziende per le quali la normativa italiana, in materia di salute e sicurezza nei luoghi di lavoro, consente lo svolgimento diretto da parte del datore di lavoro dei compiti di prevenzione e protezione dei rischi. L'applicazione di un metodo quantitativo semplice, che permetta l'identificazione di fattori aziendali critici e la brevità del processo di valutazione proposta, potrebbero consentire l'utilizzo più diffuso dello strumento. Ulteriori studi saranno necessari per confermare tale dato.

Infine l'indagine condotta mostra che il monitoraggio sierologico, sebbene condotto attraverso l'utilizzo di un test ELISA, che presenta bassa specificità (possibilità di risultati falsi positivi causati da cross-reattività con altri parassiti, in particolare *T. hydatigena*), possa consentire comunque una stima dell'esposizione lavorativa a *E. granulosus*, contribuendo ad una più completa valutazione del rischio specifico (Eckert e Deplazes, 2004). Tale test potrebbe, quindi, essere proposto nel protocollo di sorveglianza sanitaria di lavoratori potenzialmente esposti a EC. In questo caso la sorveglianza sanitaria potrebbe prevedere più step: 1) esecuzione del test ELISA a tutti i lavoratori esposti, per contribuire anche alla valutazione dei rischi in azienda (Wang et al., 2001; Schantz et al., 2003; Yang et al., 2006); 2) esecuzione di test di conferma,

in caso di risultato del test positivo-borderline (WHO, 2011) e 3) accertamenti strumentali, necessari per l'approfondimento diagnostico. Quindi non più una sorveglianza sanitaria indirizzata solo a fornire una misura generale di tutela ma un contributo e uno strumento per la prevenzione e tutela di chi opera nel settore.

Lo studio sottolinea la necessità di implementare le misure di controllo per prevenire la trasmissione del parassita e la diffusione della patologia attraverso il miglioramento delle pratiche di allevamento: limitare la macellazione clandestina del bestiame, degli ovini in particolare, controllare e limitare in numero dei cani randagi, limitare le aree dove sono ammessi i cani e impedire loro il consumo di carne cruda. Altre importanti azioni di prevenzione sono educare la popolazione alla semplice igiene personale come ad esempio lavarsi le mani con acqua calda e sapone dopo aver toccato i cani e prima di toccare il cibo ed evitare il consumo diretto di cibo o acqua che possono essere stati contaminati da materiale fecale proveniente dai cani. Tutte misure di controllo estremamente efficaci nel rompere il ciclo di trasmissione di questa importante parassitosi. Allo stesso tempo di estrema importanza è anche il monitoraggio-sorveglianza attiva per valutare la frequenza della malattia negli esseri umani e negli animali, strumento essenziale per prevenire le complicanze della parassitosi e migliorare la comprensione dell'epidemiologia della malattia (e del rischio lavorativo) favorendo il suo controllo.

Infatti, mentre sono stati compiuti progressi nella segnalazione, nella diagnosi, nel trattamento e nel controllo, l'EC è una malattia ancora negletta. Il controllo dell'EC dovrebbe essere sviluppato attraverso processi di valutazione e conoscenza del rischio, programmi di educazione e sorveglianza sanitaria proposti e attuati attraverso: a) il collegamento di discipline e competenze complementari (approccio One-Health) e b) il coinvolgimento di autorità locali e popolazione generale, in particolare lavorativa (Bardosh et al., 2016).

La maggior parte delle aziende italiane appartenenti al settore agro-zootecnico sono a conduzione familiare e, come sottolineato dal quadro strategico dell'UE in materia di salute e sicurezza sul lavoro (SSL) (2014-2020), la prima sfida da perseguire è il miglioramento e l'attuazione delle disposizioni di legge da parte degli Stati membri, in particolare rafforzando la capacità delle microimprese e delle piccole imprese di mettere in atto misure di prevenzione dei rischi efficaci ed efficienti. L'impresa familiare è però una di quelle organizzazioni di lavoro per le quali il legislatore ha

applicato una deregulation sugli obblighi in materia di salute e sicurezza sul lavoro posti in genere a carico di tutte le aziende. Infatti, il Testo Unico, per coloro che lavorano in azienda (titolare e familiari) prevede solo l'applicazione delle disposizioni dell'art. 21 ossia utilizzo di "attrezzature di lavoro in conformità alle disposizioni di cui al Titolo III" e "di dispositivi di protezione individuale (...) conformemente alle disposizioni di cui al Titolo III". I soggetti sopraccitati, relativamente ai rischi propri delle attività svolte, possono beneficiare della sorveglianza sanitaria (art. 41) e della formazione specifica in materia di SSL, (art. 37) ma solo con oneri a proprio carico. Purtroppo gli adempimenti dell'azienda per la tutela della salute animale, gli investimenti sull'innovazione tecnologica dell'azienda, finalizzata alla maggiore produttività e gli ulteriori costi di gestione aziendale, non consentono di investire sulla tutela della salute lavorativa. In presenza di una carente/assente conoscenza profonda da parte degli operatori dei potenziali rischi lavorativi viene a mancare l'acquisizione della competenza e capacità per una gestione in sicurezza delle pratiche produttive che prevede una partecipazione diretta dei lavoratori alle attività di prevenzione.

Lo studio si prefigge di sottolineare che, nella maggior parte dei casi, non vi è conflitto di interessi tra gli esseri umani e gli animali per quanto riguarda la tutela della loro salute: è chiaro che azioni volte a proteggere la salute degli animali, spesso proteggono anche la salute umana, e viceversa. E' importante promuovere l'uso del principio di precauzione in materia di salute umana e animale. Ciò implica che le azioni precauzionali devono essere sviluppate in modo proattivo quando si è in presenza di attività che possono minacciare la salute umana o animale, anche se alcune relazioni di causa ed effetto non sono stati completamente dimostrati scientificamente.

La prevenzione delle zoonosi richiede infatti un impegno globale e si adatta bene al concetto di *One Health*; tuttavia il compito principale ricade ancora sulle popolazioni locali. Sensibilizzare quindi l'opinione pubblica risulta una necessità urgente (Mateus et al., 2016).

8. BIBLIOGRAFIA

- Ahn CS, Cai H, Kim JG, Han X, Ma X, Bae YA, Yang HJ, Kang I, Wang H, Kong Y. An *Echinococcus multilocularis* Antigen B3 Proteoform That Shows Specific Antibody Responses to Active-Stage Alveolar Echinococcosis. *J Clin Microbiol.* 2015; 53(10):3310-3317.
- Akhan O, Bilgiç S, Akata D, Kıratlı H, Özmen MN. 1998. Percutaneous treatment of an orbital hydatid cyst: a new therapeutic approach. *Am J Ophthalmol.* 1998; 125:877-879.
- Akhan O, Canyigit M, Kaya D, Koksal A, Akgoz A, Yucesoy C, Akinci D. Long-term follow-up of the percutaneous treatment of hydatid cyst in the adrenal gland: a case report and review of the literature. *Cardiovasc Interv Radiol.* 2011; 34(S2):256-959.
- Akhan O, Gumus B, Akinci D, Karcaaltincaba M, Özmen M. Diagnosis and percutaneous treatment of soft-tissue hydatid cysts. *Cardiovasc Interv Radiol.* 2007; 30:419-425.
- Akhan O, Karaosmanoglu AD, Ergen B. Imaging findings in congenital hepatic fibrosis. *Eur J Radiol.* 2007; 61:18-24.
- Akhan O, Özmen MN, Dincer A, Göçmen A, Kalyoncu F. Percutaneous treatment of pulmonary hydatid cysts. *Cardiovas Interv Radiol.* 1994; 17:271-275.
- Akisu C, Delibas SB, Bicmen C, Ozkoc S, Aksoy U, Turgay N. Comparative evaluation of western blotting in hepatic and pulmonary cystic echinococcosis. *Parasite.* 2006; 13(4):321-326.
- Allevi G. L'assicurazione infortuni e la valutazione dei danni. Milano: Soc. A. Istituto Editoriale Scientifico, 1927.
- Alvarez Rojas C, Romig T, Lightowlers MW. *Echinococcus granulosus sensu lato* genotypes infecting humans: review of current knowledge. *Int J Parasitol.* 2014; 44:9-18.
- Ammann RW, Eckert J. Cestodes. *Echinococcus*. *Gastroenterol Clin North Am.* 1996; 25:655-689.
- Amr SS, Amr ZS, Jitawi S, Annab H. Hydatidosis in Jordan: an epidemiological study of 306 cases. *Ann Trop Med Parasitol.* 1994; 88:623-627.
- Bardosh KL, Berbri IE, Ducrotoy M, Bouslikhane M, Ouafaa FF, Welburn SC. Zoonotic encounters at the slaughterhouse: pathways and possibilities for the control of cystic

echinococcosis in northern Morocco. *Biosoc Sci.* [2016](#); 48(S1):S92-S115.

[Barnes TS](#), Deplazes P, Gottstein B, Jenkins DJ, Mathis A, Siles-Lucas M, Torgerson PR, Ziadinov I, Heath DD. Challenges for diagnosis and control of cystic hydatid disease. *Acta Trop.* [2012](#); 123(1):1-7.

[Bellini G](#), Lipizzi F, Consentino F, Giordano P. 6° Censimento Generale dell'Agricoltura. Atlante dell'Agricoltura Italiana. ISTAT [2013](#).

[Benedetti F](#), Frusteri L, Schneider Graziosi A. Agricoltura: salute e sicurezza sul lavoro a 100 anni dall'introduzione della tutela assicurativa. © [2017](#) Inail. ISBN 978-88-7484-556-9.

[Birincioglu CL](#), Kervan U, Tufekcioglu O, Ozen A, Bardakci H, Kucuker SA, Saritas, A. Cardiac echinococcosis. *Asian Cardiovasc Thorac Ann.* [2013](#); 21:558-565.

[Blood BD](#), [Lelijveld JL](#). Studies on sylvatic echinococcosis in southern South America. *Z Tropenmed Parasitol.* [1969](#); 20:475-482.

[Borrie J](#), Gemmell MA, Manktelow BW. An experimental approach to evaluate the potential risk of hydatid disease from inhalation of *Echinococcus* ova. *Br J Surg.* [1965](#); 52:876-878.

[Bortoletti G](#), [Ferretti G](#). Investigation on larval forms of *Echinococcus granulosus* with electron microscope. *Riv Parassitol.* [1973](#); 34:89-110.

[Bortoletti G](#), [Ferretti G](#). Ultrastructural aspects of fertile and sterile cysts of *Echinococcus granulosus* developed in hosts of different species. *Int J Parasitol.* [1978](#); 8:421-431.

[Bowles J](#), Blair D, McManus DP. A molecular phylogeny of genus *Echinococcus*. *Parasitology.* [1995](#); 110:317-328.

[Brownlee DJ](#), Fairweather I, Johnston CF, Rogan MT. Immunocytochemical localization of serotonin (5-HT) in the nervous system of the hydatid organism, *Echinococcus granulosus* (Cestoda, Cyclophyllidea). *Parasitology.* [1994](#); 109:233-241.

[Brundu D](#), Piseddu T, Stegel G, Masu G, Ledda S, Masala G. Retrospective study of human cystic echinococcosis in Italy based on the analysis of hospital discharge records between 2001 and 2012. *Acta Trop.* [2014](#); 144:152.

[Brunetti E](#), Garcia HH, Junghanss T. International CE Workshop in Lima, Peru, 2009. Cystic echinococcosis: chronic, complex, and still neglected. *PLoS Negl Trop Dis.* [2011](#); 5:e1146.

[Brunetti E](#), Kern P, Vuitton DA. Writing Panel for the WHO-IWGE. Expert consensus for

the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Acta Trop.* **2010**; 114:1-16.

[Budke CM](#), Carabin H, Ndimubanzi PC, Nguyen H, Rainwater E, Dickey M, Bhattari R, Zeziulin O, Qian MB. A systematic review of the literature on cystic echinococcosis frequency worldwide and its associated clinical manifestations. *Am J Trop Med Hyg.* **2013**; 88:1011-1027.

[Budke CM](#), Deplazes P, Torgerson PR. Global socioeconomic impact of cystic echinococcosis. *Emerg Infect Dis.* **2006**; 12(2):296-303.

[Busi M](#), Snabel V, Varcasia A, Garippa G, Perrone V, De Liberato C, D'Amelio S. 2007. Genetic variation within and between G1 and G3 genotypes of *Echinococcus granulosus* in Italy revealed by multilocus DNA sequencing. *Vet Parasitol.* **2007**; 150:75-83.

[Buttenschoen K](#), [Carli Buttenschoen D](#). 2003. *Echinococcus granulosus* infection: the challenge of surgical treatment. *Langenbecks Arch Surg.* **2003**; 388:218-230.

[Calderini P](#), Gabrielli S, Cancrini G. Is the goat a new host for the G3 Indian buffalo strain of *Echinococcus granulosus*? *Sci World J.* **2012**. 2012:286357.

[Camicia F](#), Herz M, Prada LC, Kamenetzky L, Simonetta SH, Cucher MA, Bianchi JJ, Fernández C, Brehm K, Rosenzvit MC. The nervous and pre-nervous roles of serotonin in *Echinococcus* spp. *Int J Parasitol.* **2013**; 43:647-659.

[Cappello E](#), Cacopardo B, Caltabiano E, Li Volsi S, Chiara R, Sapienza M, Nigro L. Epidemiology and clinical features of cystic hydatidosis in Western Sicily: A ten-year review. *World J Gastroenterol.* **2013**; 19(48):9351-9358.

[Capuano F](#), Rinaldi L, Maurelli MP, Perugini AG, Veneziano V, Garippa G, Genchi C, Musella V, Cringoli G. Cystic echinococcosis in water buffaloes: epidemiological survey and molecular evidence of ovine (G1) and buffalo (G3) strains. *Vet Parasitol.* **2006**; 137(3-4):262-268.

[Cardona GA](#), [Carmena D](#). A review of the global prevalence, molecular epidemiology and economics of cystic echinococcosis in production animals. *Vet Parasitol.* **2013**; 192:10-32.

[Caremani M](#), Maestrini R, Occhini U, Sassoli S, Accorsi A, Giorgio A, Filice C. Echographic epidemiology of cystic hydatid disease in Italy. *Eur J Epidemiol.* **1993**; 9(4):401-404.

- Carmena D, Benito A, Eraso E. Antigens for the immunodiagnosis of *Echinococcus granulosus* infection: An update. *Acta Trop.* 2006; 98(1):74-86.
- Casulli A, Manfredi MT, La Rosa G, Cerbo AR, Genchi C, Pozio E. *Echinococcus ortleppi* and *E. granulosus* G1, G2 and G3 genotypes in Italian bovines. *Vet Parasitol.* 2008; 155:168-172.
- Casulli A. Preliminary results from extended ultrasound surveys in Eastern Europe European Multicolloquium on Parasitology, Turku, Finland (oral presentation). 2016.
- Chirag S, Fomda BA, Khan A, Malik AA, Lone GN, Khan BA, Zahoor D. Detection of hydatid-specific antibodies in the serum and urine for the diagnosis of cystic echinococcosis in patients from the Kashmir Valley, India. *J Helminthol.* 2015; 89(2):232-237.
- Colli CW, Williams JF. Influence of temperature on the infectivity of eggs of *Echinococcus granulosus* in laboratory rodents. *J Parasitol.* 1972; 58:422-426.
- Conchedda M, Antonelli A, Caddori A, Gabriele F. A retrospective analysis of human cystic echinococcosis in Sardinia (Italy), an endemic Mediterranean region, from 2001 to 2005. *Parasitol Int.* 2010; 59(3):454-459.
- Constantine CC, Lymbery AJ, Jenkins DJ, Bennet-Jenkins EM, Behm CA, Thompson RCA. Factors influencing the development and carbohydrate metabolism of *Echinococcus granulosus* in dogs. *J Parasitol.* 1998; 84:873-881.
- Craig P, Pawlowski Z (Eds). *Cestode Zoonoses: Echinococcosis and Cysticercosis*. IOS Press, Amsterdam, 2002; pp. 367-379.
- Cucher M, Prada L, Mourglia-Ettlin G, Dematteis S, Camicia F, Asurmendi S, Rosenzvit M. Identification of *Echinococcus granulosus* microRNAs and their expression in different life cycle stages and parasite genotypes. *Int J Parasitol.* 2011; 41:439-448.
- Culafic DJ, Katic-Radivojevic S, Kerkez M, Vukcevic M, Rankovic V, Stefanovic D. Liver cystic echinococcosis in humans - a study of 30 cases. *Helminthologia* 2007; 44:157-161.
- Daryani A, Alaei R, Arab R, Sharif M, Dehghan MH, Ziaei H. The prevalence, intensity and viability of hydatid cysts in slaughtered animals in the Ardabil province of Northwest Iran. *J Helminthol.* 2007; 81(1):13-17.
- Del Carpio M, Mercapide CH, Salvitti JC, Uchiumi L, Sustercic J, Panomarenko H, Moguilensky J, Herrero E, Talmon G, Volpe M, Araya D, Mujica G, Calabro A, Mancini S, Chiosso C, Labanchi JL, Saad R, Goblirsch S, Brunetti E, Larrieu E. Early diagnosis,

treatment and follow-up of cystic echinococcosis in remote rural areas in Patagonia: impact of ultrasound training of non-specialists. *PLoS Negl Trop Dis.* [2012](#); 6:e1444.

[Deplazes P](#), Rinaldi L, Alvarez Rojas CA, Torgerson PR, Harandi MF, Romig T, Antolova D, Schurer JM, Lahmar S, Cringoli G, Magambo J, Thompson RC, Jenkins EJ. Global Distribution of Alveolar and Cystic Echinococcosis. *Adv Parasitol.* [2017](#); 95:315-493.

[Deplazes P](#), Thompson RCA, Constantine CC, Penhale WJ. Primary infection of dogs with *Echinococcus granulosus*: systemic and local (Peyer's patches) immune responses. *Vet Immunol Immunopathol.* [1993](#); 40:171-184.

[Dinkel A](#), Njoroge EM, Zimmermann A, Wälz M, Zeyhle E, Elmahdi IE, Mackenstedt U, Romig T. A PCR system for detection of species and genotypes of the *Echinococcus granulosus* complex, with reference to the epidemiological situation in eastern Africa. *Int J Parasitol.* [2004](#); 34(5):645-653.

[Donham KJ](#), [Thelin A](#). *Agricultural Medicine: Occupational and Environmental Health for the Health Professions*, Iowa USA, Blackwell Publishing Ed. [2006](#).

[ECDC](#). European Centre for Disease Prevention and Control. Annual epidemiological report 2013. Reporting on 2011 surveillance data and 2012 epidemic intelligence data. Stockholm: ECDC; [2013](#). Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/Annual-Epidemiological-Report-2013.pdf>

[Eckert J](#), [Deplazes P](#). Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. *Clin Microbiol Rev.* [2004](#); 17:107-135.

[EFSA AHAW Panel](#) (EFSA Panel on Animal Health and Welfare). Scientific Opinion on *Echinococcus multilocularis* infection in animals. *EFSA Journal* [2015](#); 13(12):4373.

[EFSA](#). EU summary report on zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks 2015. *EFSA Journal.* [2016](#);14(12):4634.

[EFSA](#). EU summary report on zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks 2014. *EFSA Journal* [2015](#); 13(12):4329.

[EFSA](#). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2011 *EFSA Journal* [2013](#); 11(4):3129.

[El Marsfy YS](#), [Morsy TA](#). A preliminary study on echinococcosis in Riyadh, Saudi Arabia. *J Pak Med Assoc.* [1975](#); 25:10-11.

[Enigk K](#). *Geschichte der Helminthologie im deutschsprachigen Raum*. G. Fischer, Stuttgart, [1986](#).

- Euzeby J. Larval echinococcosis, a major zoonosis. Epidemiologic, etiologic and prophylactic study. *Maroc Med.* 1968; 48(518):643-660.
- Fahim F, Al Salamah SM. Cystic echinococcosis in Central Saudi Arabia: a 5-year experience. *Turk J Gastroenterol.* 2007; 18:22-27.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. The veterinary contribution to the public health practise – Report of a Joint FAO/WHO Expert Committee on veterinary Public Health. Agricultural Studies n° 96. FAO, Rome. 1975.
- FAO/WHO. Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization. Multicriteria-based ranking for risk management of food-borne parasites. Microbiological Risk Assessment Series No. 23. Rome. Rome/Geneva: FAO/WHO; 2014.
- Farahmand M, Yadollahi M. Echinococcosis: an occupational disease. *Int J Occup Environ Med.* 2010; 1:88-91.
- Feng X, Wen H, Zhang Z, Chen X, Ma X, Zhang J, Qi X, Bradshaw H, Vuitton D, Craig PS. Dot immunogold filtration assay (DIGFA) with multiple native antigens for rapid serodiagnosis of human cystic and alveolar echinococcosis. *Acta Trop.* 2010; 113(2):114-20.
- Frider B, Larrieu E, Odriozola M. Long-term outcome of asymptomatic liver hydatidosis. *J Hepatol.* 1999; 30(2):228-231.
- Fuchs R. Hippokrates. Sämtliche Werke ins Deutsche übersetzt und ausführlich commentiert. Verlag, Dr. H. Lüneburg, München, 1895.
- Gabriele F, Bortoletti G, Conchedda M. Human cystic echinococcosis in Sardinia during the 20th Century. *Parassitologia.* 2004; 46(4):383–385.
- Garippa G, Battelli G, Cringoli G, Giangaspero A, Giannetto S, Manfredi MT. Animal echinococcosis in Italy: epidemiological update. *Parassitologia.* 2004; 46:33-38.
- Garippa G, Manfredi MT. Cystic echinococcosis in Europe and in Italy. *Vet Res Commun.* 2009; 33(1):35-39.
- Garippa G, Varcasia A, Scala A. Cystic echinococcosis in Italy from the 1950s to present. *Parassitologia.* 2004; 46:387-391.
- Garippa G. Updates on Cystic Echinococcosis (CE) in Italy. *Parassitologia.* 2006; 48(1-2):57–59.

- Gemmell MA, Lawson JR, Roberts MG. Population dynamics in echinococcosis and cysticercosis: biological parameters of *Echinococcus granulosus* in dogs and sheep. *Parasitology* 1986; 92:599-620.
- Gemmell MA. Natural and acquired immunity factors interfering with development during the rapid growth phase of *Echinococcus granulosus* in dogs. *Immunology*. 1962; 5:496.
- Gharbi HA, Hassine W, Brauner MW, Dupuch K. 1981. Ultrasound examination of the hydatid liver. *Radiology*. 1981; 139:459-463.
- Giannetto S, Poglayen G, Brianti E, Sorgi C, Gaglio G, Canu S, Virga, A. An epidemiological updating on cystic echinococcosis in cattle and sheep in Sicily, Italy. *Parassitologia*. 2004; 46:423-424.
- Gori F, Armua-Fernandez MT, Milanesi P, Serafini M, Magi M, Deplazes P, Macchioni F. The occurrence of taeniids of wolves in Liguria (northern Italy). *Int J Parasitol Parasites Wildl*. 2015; 4(2):252-255.
- Grove DI, Warren KS, Mahmoud AA. Algorithms in the diagnosis and management of exotic diseases. X. Echinococcosis. *J Infect Dis*. 1976; 133:354-358.
- Grove DI. *A History of Human Helminthology*. CAB International, Wallingford, Oxon, 1990.
- Guberti V, Bolognini M, Lanfranchi P, Battelli G. *Echinococcus granulosus* in the wolf in Italy. *Parassitologia*. 2004; 46(4):425-427.
- Heath DD, Lawrence SB. Daily egg-producton of dogs infected with *Echinococcus granulosus*. *Archives de la Hidatidosis*. 1991; 30:321-328.
- Heath DD, Lawrence SB. *Echinococcus granulosus*: development in vitro from oncosphere to immature hydatid cyst. *Parasitology*. 1976; 73, 417-423.
- Heath DD. The migration of oncospheres of *Taenia pisiformis*, *T. serialis* and *Echinococcus granulosus* within the intermediate host. *Int J Parasitol*. 1971; 1:145-152.
- Hernández-González A, Santivañez S, García HH, Rodríguez S, Muñoz S, Ramos G, Orduña A, Siles-Lucas M. Improved serodiagnosis of cystic echinococcosis using the new recombinant 2B2t antigen. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012; 6(7):e1714.
- Herrador Z, Siles-Lucas M, Aparicio P, Lopez-Velez R, Gherasim A, Garate T and Benito A. Cystic echinococcosis epidemiology in Spain based on hospitalization records, 1997–2012. *Plos NTD*. 2016; 10:1–15.

Herremans T, Verweij JJ, Schipper HG, Casparie M, van Lieshout L, Pinelli E and Kortbeek T. Decline of echinococcosis in the Netherlands; 1997-2008. *Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde*. 2010; 154(18):A2297.

Holcman B, Heath DD. The early stages of *Echinococcus granulosus* development. *Acta Trop*. 1997; 64:5-17.

Horton RJ. Albendazole in treatment of human cystic echinococcosis: 12 years of experience. *Acta Trop*. 1997; 64:79-93.

Hosch W, Stojkovic M, Jänisch T, Kauffmann GW, Junghanss T. The role of calcification for staging cystic echinococcosis (CE). *Eur Radiol*. 2007; 17:2538-2545.

Hosemann G, Schwarz E, Lehmann JC, Posselt A. (Eds.). *Die Echinokokken-Krankheit*. F. Enke, Stuttgart, 1928.

Howell MJ, Smyth JD. Cultivation. In: Thompson RC, Lymbery AJ. (Eds.). *Echinococcus and Hydatid Disease*. CAB International, Wallingford, Oxon, UK, 1995; pp. 200-232.

Huttner M, Nakao M, Wassermann T, Siefert L, Mapherson CNL, Mackenstedt U, Dinkel A, Ito A, Romig T. A new *Echinococcus* genotype from ugandan lions. Proceeding book of 22nd International Congress of Hydatidology & International Symposium on Zoonoses, Atene, 2007.

Irshadullah M, Nizami WA, Ahmad M. Polymorphism in the microtriches of adult *Echinococcus granulosus*: scanning electron microscopy. *Zool Anz*. 1990; 224:321-327.

ISTAT - Istituto nazionale di statistica, ISTAT, Istituto nazionale di statistica, Italy - www.istat.it – 2008.

Jabbar A, Swiderski Z, Mlocicki D, Beveridge I, Lightowlers MW. The ultrastructure of taeniid cestode oncospheres and localization of host-protective antigens. *Parasitology*. 2010; 137:521-535.

Jenkins DJ, Rickard MD. Specific antibody responses in dogs experimentally infected with *Echinococcus granulosus*. *Am J Trop Med Hyg*. 1986; 35:345-349.

Jiang L, Zhang YG, Liu MX, Feng Z. Analysis on the reactivity of five subunits of antigen B family in serodiagnosis of echinococcosis. *Exp Parasitol*. 2012a; 131(1):85-91.

Jiang W, Liu N, Zhang G, Renqing P, Xie F, Li T, Wang Z, Wang X. Specific detection of *Echinococcus* spp. from the Tibetan fox (*Vulpes ferrilata*) and the red fox (*V. vulpes*) using copro-DNA PCR analysis. *Parasitol Res*. 2012b; 111(4):1531-1539.

Jin Y, Anvarov K, Khajibaev A, Hong S, Hong ST. Serodiagnosis of echinococcosis by ELISA using cystic fluid from Uzbekistan sheep. *Korean J Parasitol*. 2013; 51(3):313-317.

Junghanss T, da Silva A, Horton J, Chiodini P, Brunetti E. Clinical management of cystic echinococcosis: state of the art, problems and perspectives. *Am J Trop Med Hyg.* 2008; 79:301-311.

Karavias DD, Vagianos CE, Kakkos SK, Panagopoulos CM, Androulakis JA. Peritoneal echinococcosis. *World J Surg.* 1996; 20(3):337-40.

Kern P, Menezes da Silva A, Akhan O, Müllhaupt B, Vizcaychipi KA, Budke C, Vuitton DA. The Echinococcoses: Diagnosis, Clinical Management and Burden of Disease. *Adv Parasitol.* 2017; 96:259-369.

Kersting AL, Medeiros LC, LeJeune JT. Zoonoses and the Physicians' Role in Educating Farming Patients. *J Agromed.* 2009; 14:306–311.

Keshmiri M, Baharvahdat H, Fattahi SH, Davachi B, Dabiri RH, Baradaran H, Rajabzadeh F. Albendazole versus placebo in treatment of echinococcosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2001; 95:190-194.

Kilimcioğlu AA, Girginkardeşler N, Korkmaz M, Özkol M, Düzgün F, Östan I, Pabuşcu Y, Dinç G, Ok UZ. A mass screening survey of cystic echinococcosis by ultrasonography, Western blotting, and ELISA among university students in Manisa, Turkey. *Acta Trop.* 2013; 128(3):578-83.

Kornaros S, Aboul-Nour T. Frank intrabiliary rupture of hydatid hepatic cyst: diagnosis and treatment. *J Am Coll Surg.* 1996; 183:466-470.

Kumaratilake LM, Thompson RC. Maintenance of the life cycle of *Echinococcus granulosus* in the laboratory following in vivo and in vitro development. *Z ParasitKde.* 1981; 65:103-106.

Langenbuch C. Der Leberechinococcus und seine Chirurgie. Verlag Ferdinand Enke, Stuttgart, 1890.

Larrieu E, Del Carpio M, Salvitti J, Mercapide C, Sustersic J, Panomarenko H, Costa M, Bigatti R, Labanchi J, Herrero E, Cantoni G, Perez A, Odriozola M. Ultrasonographic diagnosis and medical treatment of human cystic echinococcosis in asymptomatic school age carriers: 5 years of follow-up. *Acta Trop.* 2004; 91:5-13.

Larrieu EJ, Costa MT, del Carpio M, Moguillansky S, Bianchi G, Yadon ZE. A case-control study of the risk factors for cystic echinococcosis among the children of Rio Negro province, Argentina. *Ann Trop Med Parasitol.* 2002; 96(1):43-52.

Lascano EF, Coltorti EA, Varela-Diaz VM. Fine structure of the germinal membrane of *Echinococcus granulosus* cysts. *J Parasitol.* 1975; 61:853-860.

- Latif AA, Tanveer A, Maqbool A, Siddiqi N, Kyaw-Tanner M, Traub RJ. Morphological and molecular characterisation of *Echinococcus granulosus* in livestock and humans in Punjab, Pakistan. *Vet Parasitol.* 2010; 170(1-2):44-49.
- Lavikainen A, Lehtinen MJ, Meri T, Hirvela-Koski V, Meri S. Molecular genetic characterization of the Fennoscandian cervid strani, a new genotypic group (G10) of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology.* 2003; 127(3):207-215.
- Laws GF. Physical factors influencing survival of taeniid eggs. *Exp Parasitol.* 1968; 22(2):227-39.
- Lethbridge RC. The biology of the oncosphere of cyclophyllidean cestodes. *Helminthol Abstr.* 1968; A49:59-72.
- Li D, Gao Q, Liu J, Feng Y, Ning W, Dong Y, Tao L, Li J, Tian X, Gu J, Xin D. Knowledge, attitude, and practices (KAP) and risk factors analysis related to cystic echinococcosis among residents in Tibetan communities, Xiahe County, Gansu Province, China. *Acta Trop.* 2015; 147:17-22.
- Liance M, Janin V, Bresson-Hadni S, Vuitton DA, Houin R, Piarroux R. Immunodiagnosis of *Echinococcus* infections: confirmatory testing and species differentiation by a new commercial Western Blot. *J Clin Microbiol.* 2000; 38(10):3718-3721.
- Lissandrin R, Tamarozzi F, Piccoli L, Tinelli C, De Silvestri A, Mariconti M, Meroni V, Genco F, Brunetti E. Factors Influencing the Serological Response in Hepatic *Echinococcus granulosus* Infection. *Am J Trop Med Hyg.* 2016; 94(1):166-171.
- Lymbery AJ, Jenkins EJ, Schurer JM, Thompson RCA. *Echinococcus canadensis*, *E. borealis*, and *E. intermedius*. What's in a name? *Trends Parasitol.* 2015; 31:23-29.
- Lymbery AJ, Thompson RC. The molecular epidemiology of parasite infections: tools and applications. *Mol Biochem Parasitol.* 2012; 181:102-116.
- Lymbery AJ. Genetic diversity, genetic differentiation and speciation, in: Thompson RC, Lymbery AJ (Eds.). *Echinococcus* and Hydatid Disease. CAB International, Wallingford, UK, 1995; pp. 51-87.
- Lymbery AJ. Inbreeding, monophyly and the genetic yardstick: species concepts in parasites. *Parasitol Today.* 1992; 8:208-211.
- Lymbery AJ. Phylogenetic pattern, evolutionary processes and species delimitation in the Genus *Echinococcus*. *Adv Parasitol.* 2017; 95:111-145.

- [Manfredi MT](#), Di Cerbo AR, Zanzani S, Moriggia A, Fattori D, Siboni A, Bonazza V, Filice C, Brunetti E. Prevalence of echinococcosis in humans, livestock and dogs in northern Italy. *Helminthologia*. [2011](#); 48:59-66.
- [Mantovani A](#). Appunti sullo sviluppo del concetto di zoonosi. Atti III Convegno Nazionale di Storia della Medicina Veterinaria. Lastra a Signa (FI), 23-24 settembre [2000](#).
- [Mantovani A](#). Zoonoses control and veterinary public health. *Rev Sci Tech*. [1992](#); 11(1):205-218.
- [Manzano-Román R](#), Sánchez-Ovejero C, Hernández-González A, Casulli A, Siles-Lucas M. Serological Diagnosis and Follow-Up of Human Cystic Echinococcosis: A New Hope for the Future? *Biomed Res Int*. [2015](#); 2015:428205.
- [Mastrandrea S](#), Stegel G, Piseddu T, Ledda S, Masala G. A retrospective study on burden of human echinococcosis based on hospital discharge records from 2001 to 2009 in sardinia, Italy. *Acta Trop*. [2012](#); 123(3):184–189.
- [Mateus TL](#), Niza-Ribeiro J, Castro A, Vieira-Pinto M. Limited Knowledge About Hydatidosis Among Farmers in Northwest Portugal: A Pressing Need for a One Health Approach. *Ecohealth*. [2016](#); 13(3):480-489.
- [Maurelli MP](#), Rinaldi L, Pepe P, Ianniello D, Amadesi A, Cringoli G. Innovative diagnostic tools to control cystic echinococcosis. In: 9th European Congress on Tropical Medicine and International Health, Basel, Switzerland. [2015](#); p. 48.
- [Mbaya H](#), Magambo J, Njenga S, Zeyhle E, Mbae C, Mulinge E, Wassermann M, Kern P, Romig T. *Echinococcus* spp. in central Kenya: a different story. *Parasitol Res*. [2014](#); 113:3789-3794.
- [McManus DP](#), Zhang W, Li J, Bartley PB. Echinococcosis. *Lancet*. [2003](#); 362(9392):1295-1304.
- [Menezes da Silva A](#). Hydatid cyst of the liver e criteria for the selection of appropriate treatment. *Acta Trop*. [2003](#); 85:237-242.
- [Mohammadzadeh T](#), Sako Y, Sadjjadi SM, Sarkari B, Ito A. Comparison of the usefulness of hydatid cyst fluid, native antigen B and recombinant antigen B8/1 for serological diagnosis of cystic echinococcosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. [2012](#); 106(6):371-375.
- [Moro P](#), [Schantz PM](#). Echinococcosis: a review. *Int J Inf Dis*. [2009](#); 13:125-133.
- [Moro PL](#), Garcia HH, Gonzales AE, Bonilla JJ, Verastegui M, Gilman RH. Screening for cystic echinococcosis in an endemic region of Peru using portable ultrasonography and

the enzyme-linked immunoelectrotransfer blot (EITB) assay. *Parasitol Res.* [2005](#); 96:242-246.

[Morseth DJ](#). Fine structure of the hydatid cyst and protoscolex of *Echinococcus granulosus*. *J Parasitol.* [1967](#); 53:312-325.

[Morseth DJ](#). Ultrastructure of developing taeniid embryophores and associated structures. *Exp Parasitol.* [1965](#); 16:207-216.

[Nabi-Yatoo G](#), Khuroo M, Ali-Zargar S, Ahmad-Bhat F, Ahmad-Soft B. Percutaneous drainage of the pancreatic cyst. *J Gastroenterol Hepatol.* [1999](#); 14, 931-934.

[Nakao M](#), Lavikainen A, Yanagida T, Ito A. Phylogenetic systematics of the genus *Echinococcus* (Cestoda: Taeniidae). *Int J Parasitol.* [2013](#); 43(12-13):1017-1029.

[Nakao M](#), McManus DP, Schantz PM, Craig PS, Ito A. A molecular phylogeny of the genus *Echinococcus* inferred from complete mitochondrial genomes. *Parasitology.* [2007](#); 134(5):713-722.

[Nakao M](#), Xiao N, Okamoto M, Yanagida T, Sako Y, Ito A. Geographic pattern of genetic variation in the fox tapeworm *Echinococcus multilocularis*. *Parasitol Int.* [2009](#); 58:384-389.

[Neisser A](#). Die Echinococcen-Krankheit. Verlag August Hirschwald. Berlin, [1877](#).

[Ortlepp RJ](#). *Echinococcus* in dogs from Pretoria and vicinity. *Onderstepoort J Vet Sci Anim Ind.* [1934](#); 3:97-108.

[Ortlepp RJ](#). South African helminths, Part I. *Onderstepoort J Vet Sci Anim Ind.* [1937](#); 9:311-336.

[Oruc E](#), Yıldırım N, Topal NB, Kılıçturgay S, Akgoz S, Savcı G. The role of diffusion-weighted MRI in the classification of liver hydatid cysts and differentiation of simple cysts and abscesses from hydatid cysts. *Diagn Interv Radiol.* [2010](#); 16:279-287.

[Otero-Abad B](#), [Torgerson PR](#). A systematic review of the epidemiology of echinococcosis in domestic and wild animals. *PLoS Negl Trop Dis.* [2013](#); 7(6):e2249.

[Oto A](#), Akhan O, Özmen MN. Focal inflammatory diseases of the liver. *Eur J Radiol.* [1999](#); 32:61-75.

[Paolillo E](#), Botto B, Cohen H, Dibarboure L, Rodriguez L, Antoniello L, Rios F, Dibarboure H. Hidatidosis: un problema de atención primaria en salud. *Rev Med Uruguay.* [1991](#); 7:32-37.

Pardo J, Muro A, Galindo I, Cordero M, Carpio A, Siles- Lucas M. [Hydatidosis in the province of Salamanca (Spain): should we let down our guard?]. *Enferm Infect Microbiol Clin*. 2005; 23(5):266-9.

Pawlowski ZS, Eckert J, Vuitton DA, Ammann RW, Kern P, Craig PS, Dar F, De Rosa F, Filice C, Gottstein B, Grimm F, Macpherson CNL, Sato N, Todorov T, Uchino J, von Sinner W, Wen H. Echinococcosis in Humans: clinical aspects, diagnosis, and treatment. In: Eckert J, Gemmell MA, Meslin FX, Pawlowski ZS (Eds.). *Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: A Public Health Problem of Global Concern*. World Health Organization for Animal Health and World Health Organization (OIE/WHO), Paris, 2001; pp. 20-72.

Petrone L, Cuzzi G, Colace L, Ettore GM, Busi-Rizzi E, Schininà V, et al. Cystic echinococcosis in a single tertiary care center in Rome, Italy. *Biomed Res Int*. 2013; 2013:978146.

Petrone L, Vanini V, Petruccioli E, Ettore GM, Busi Rizzi E, Schinina V, Girardi E, Ludovisi A, Gómez-Morales MÁ, Pozio E, Teggi A, Goletti D. IL-4 specific response in whole blood associates with human Cystic Echinococcosis and cyst activity. *J Infect*. 2015; 70(3):299–306.

Poretti D, Felleisen E, Grimm F, Pfister M, Teuscher F, Zuercher C, Reichen J, Gottstein B. Differential immunodiagnosis between cystic hydatid disease and other cross-reactive pathologies. *Am J Trop Med Hyg*. 1999; 60(2):193-198.

Possenti A, Manzano-Román R, Sánchez-Ovejero C, Boufana B, La Torre G, Siles-Lucas M, Casulli A. Potential Risk Factors Associated with Human Cystic Echinococcosis: Systematic Review and Meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016; 10(11):e0005114.

Quaranta F. Contributo alla storia dell'assicurazione contro gli infortuni sul lavoro a Vercelli. Dalle origini alla vigilia della prima guerra mondiale (1898-1914). Inail Edizioni. 2002. https://www.inail.it/cs/internet/docs/alg-contributo_storia_assicurazione_contro_gli_infortuni.pdf

Rabozzi G, Bonizzi L, Crespi E, Somaruga C, Sokooti M, Tabibi R, Vellere F, Brambilla G, Colosio C. Emerging zoonoses: the "one health approach". *Saf Health Work*. 2012; 3(1):77-83.

Rahimi H, Sadjjadi S, Sarkari B. Performance of antigen B isolated from different hosts and cyst locations in diagnosis of cystic echinococcosis. *Iran J Parasitol*. 2011; 6(1):12-9.

Ramos G, Orduna A, García-Yuste M. Hydatid cyst of the lung: diagnosis and treatment. *World J Surg.* 2001; 25:46-57.

Rausch RL, Nelson GS. A review of the genus *Echinococcus Rudolphi*, 1801. *Ann Trop Med Parasitol.* 1963; 57:127-135.

Rausch RL. Taeniidae. In: McCulloch WF, Schurrenberger PF (Eds). *Diseases Transmitted from Animals to Man*. Thomas, Springfield, Illinois, 1975; pp. 678-707.

Rausch RL. The taxonomic value and variability of certain structures in the cestode genus *Echinococcus* (Rud., 1801) and a review of recognised species. *Thapar Commemoration Volume*, 1953; 233-246.

Rinaldi L, Maurelli MP, Capuano F, Perugini AG, Veneziano V, Cringoli S. Molecular update on cystic echinococcosis in cattle and water buffaloes of southern Italy. *Zoonoses Public Health.* 2008a; 55:119-123.

Rinaldi L, Maurelli MP, Veneziano V, Capuano F, Perugini AG, Cringoli S. The role of cattle in the epidemiology of *Echinococcus granulosus* in an endemic area of southern Italy. *Parasitol Res.* 2008b; 103:175-179.

Rogan MT, Bodell AJ, Craig PS. Post-encystment/established immunity in cystic echinococcosis: is it really that simple? *Parasite Immunol.* 2015; 37(1):1-9.

Romig T, Ebi D, Wassermann M. Taxonomy and molecular epidemiology of *Echinococcus granulosus sensu lato*. *Vet Parasitol.* 2015; 213:76-84.

Romig T, Omer RA, Zeyhle E, Huettnner M, Dinkel A, Siefert L, Elmahdi IE, Magambo J, Ocaido M, Menezes CN, Ahmed ME, Mbae C, Grobusch MP, Kern P. Echinococcosis in sub-Saharan Africa: emerging complexity. *Vet Parasitol.* 2011; 181:43-47.

Romig T, Zeyhle E, Macpherson CN, Rees PH, Were JB. Cyst growth and spontaneous cure in hydatid disease. *Lancet.* 1986; 1:861.

Romig T. Epidemiology of echinococcosis. *Langenbecks Arch Surg.* 2003; 388(4):209-217.

Roneus O, Christensson D, Nilsson N-G. The longevity of hydatid cysts in horses. *Vet Parasitol.* 1982; 11:149-154.

Rudolphi CA. Beobachtungen über die Eingeweidewürmer. *Arch für Zool Zootomie.* 1801; 2:1-65.

Sanchez E, Caceres O, Naquira C, Miranda E, Samudio F, Fernandes O. *Echinococcus granulosus* genotypes circulating in alpacas (*Lama pacos*) and pigs (*Sus scrofa*) from an endemic region in Peru. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2012; 107:275-278.

- [Santivanez S](#), Garcia HH. Pulmonary cystic echinococcosis. *Curr Opin Pulm Med.* [2010](#); 16:257-261.
- [Santivañez SJ](#), Rodriguez ML, Rodriguez S, Sako Y, Nkouawa A, Kobayashi Y, Sotomayor AL, Peralta JE, Valcarcel M, Gonzalez AE, Garcia HH, Ito A. Evaluation of a New Immunochromatographic Test Using Recombinant Antigen B8/1 for Diagnosis of Cystic Echinococcosis. *J Clin Microbiol.* [2015](#); 53(12):3859-3863.
- [Santos GB](#), Soares MDP, Brito EMD, Rodrigues AL, Siqueira NG, Gomes-Gouvea MS, Alves MM, Carneiro LA, Malheiros AP, Povoá MM, Zaha A, Haag KL. Mitochondrial and nuclear sequence polymorphisms reveal geographic structuring in Amazonian populations of *Echinococcus vogeli* (Cestoda: Taeniidae). *Int J Parasitol.* [2012](#); 42:1115-1118.
- [Sarkari B](#), [Rezaei Z](#). Immunodiagnosis of human hydatid disease: Where do we stand? *World J Methodol.* [2015](#); 5(4):185-195.
- [Sayek I](#), [Onat D](#). Diagnosis and treatment of uncomplicated hydatid cyst of the liver. *World J Surg.* [2001](#); 25:21-27.
- [Scala A](#), Varcasia A, Garippa G. Cystic echinococcosis in Sardinia: the current role of sheep. *Parassitologia.* [2004](#); 46(4):397-400.
- [Scala A](#), Varcasia A, Pipia AP, Pilo C, Garippa G. First molecular isolation of *Echinococcus granulosus* horse strain (G4) in Sardinia (Italy). *Parassitologia.* [2006](#); 48:344.
- [Scaramozzino P](#). Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana. [2016](#).
- [Schantz PM](#), Colli C, Cruz-Reyes A, Prezioso U. Sylvatic echinococcosis in Argentina. II. Susceptibility of wild carnivores to *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) and host-induced morphological variation. *Tropenmed Parasitol.* [1976](#); 27, 70-78.
- [Schantz PM](#), Van den Bossche H, Eckert J. Chemotherapy for larval echinococcosis in animals and humans: report of a workshop. *Z Parasitenkd.* [1982](#); 67, 5-26.
- [Schantz PM](#), Wang H, Qiu J, Liu FJ, Saito E, Emshoff A, Ito A, Roberts JM, Delker C. Echinococcosis on the Tibetan Plateau: prevalence and risk factors for cystic and alveolar echinococcosis in Tibetan populations in Qinghai Province, China. *Parasitology.* [2003](#); 127:S109–S120.
- [Schantz PM](#). Echinococcosis. In: Steele, J. (Ed.). *CRC Handbook Series in Zoonoses, Section C: Parasitic Zoonoses, 1*. CRC Press, Boca Raton, FL, [1982](#); pp. 231-277.
- [Schantz PM](#), Chai J, Craig PS, Eckert J, Jenkins DJ, Macpherson CNL, Thakur A.

Epidemiology and control of hydatid disease. Thompson RCA, Lymbery AJ (Eds). *Echinococcus* and Hydatid Disease. Wallingford, United Kingdom: CAB International, 1995; pp. 233–331.

Schultz M. Rudolf Virchow. Emerging Infectious Diseases. 2008; 14(9):1480-1481.

Schwabe CN. Veterinary medicine and human health. William and Wilkens, Baltimore, 1960.

Schweiger A, Grimm F, Tanner I, Müllhaupt B, Bertogg K, Müller N, Deplazes P. Serological diagnosis of echinococcosis: the diagnostic potential of native antigens. Infection. 2012; 40(2):139-152.

Seimenis A, Morelli D, Mantovani A. Zoonoses in the Mediterranean region. Ann Ist Super Sanita. 2006; 42(4):437-445.

Seimenis A. Overview of the epidemiological situation on echinococcosis in the Mediterranean region. Acta Trop. 2003; 85(2):191-195.

Shambesh MA, Craig PS, Macpherson CN, Rogan MT, Gusbi AM, Eghtuish EF. An extensive ultrasound and serologic study to investigate the prevalence of human cystic echinococcosis in northern Libya. Am J Trop Med Hyg. 1999; 60:462-528.

Siles-Lucas M, Casulli A, Conraths FJ, Müller N. Laboratory Diagnosis of *Echinococcus* spp. in Human Patients and Infected Animals. Adv Parasitol. 2017; 96:159-257.

Siles-Lucas MM, Gottstein BB. Molecular tools for the diagnosis of cystic and alveolar echinococcosis. Trop Med Int Health. 2001; 6(6):463-75.

SIMLII - Società Italiana di Medicina del Lavoro ed Igiene Industriale. Linee guida per la sorveglianza sanitaria in agricoltura. Nuova Editrice Berti, 2013.

Singh BB, Singh G, Sharma R, Sharma JK, Aulakh RS, GII JPS. Human hydatidosis: an under discussed occupational zoonosis in India. Helminthologia 2013; 50(2):87–90.

Siracusano A, Bruschi F. Cystic echinococcosis: progress and limits in epidemiology and immunodiagnosis. Parassitologia. 2006; 48(1-2):65-66.

Smyth JD. Parasites as biological models. Parasitology. 1969; 59:73-91.

Smyth JD. Studies on tapeworm physiology. XI. In vitro cultivation of *Echinococcus granulosus* from the protoscolex to the strobilate stage. Parasitology. 1967; 57:111-133.

Smyth JD, Davies Z. Occurrence of physiological strains of *Echinococcus granulosus* demonstrated by in vitro culture of protoscoleces from sheep and horse hydatid cysts. Int J Parasitol. 1974; 4:443–445.

Smyth JD, Howkins AB, Barton M, 1966. Factors controlling the differentiation of the hydatid organism, *Echinococcus granulosus*, into cystic or strobilar stages in vitro. *Nature*. 1996; 211:1374-1377.

Smyth JD. The biology of the hydatid organism. *Adv Parasitol*. 1964; 2:169-219.

Soares MCP, dos Santos Rodrigues AL, Moreira Silva CA, de Figuerido Brito EM, Gomes-Gouvêa MS, dos Santos Corrêa IR, Pinho JRR, Malheiros AP, Nunes HM, Pávoa MM. Anatomico-clinical and molecular description of liver neotropical echinococcosis caused by *Echinococcus oligarthrus* in human host. *Acta Trop*. 2013; 125:110-114.

Spruance SL. Latent period of 53 years in a case of hydatid cyst disease. *Arch Int Med*. 1974; 134:741-742.

Stojkovic M, Junghans T. Cystic and alveolar echinococcosis. *Handb Clin Neurol*. 2013; 114:327-334.

Stojkovic M, Rosenberger K, Kauczor HU, Junghans T, Hosch W. Diagnosing and staging of cystic echinococcosis: how do CT and MRI perform in comparison to ultrasound? *PLoS Negl Trop Dis*. 2012; 6:e1880.

Stull JW, Peregrine AS, Sargeant JM, Weese JS. Pet husbandry and infection control practices related to zoonotic disease risks in Ontario, Canada. *BMC Public Health*. 2013; 13:520.

Swanton SD, Wildsmith JD. Prevalence of the Hydatid Disease-causing tapeworm *Echinococcus granulosus* amongst stray dogs in south east Wales, United Kingdom. *J Environ Health Res*. 2008; 7(2):1-18.

Swiderski Z. *Echinococcus granulosus*: embryonic envelope formation. In: Proceedings of 10th International Congress Electron Microscopy. 1982; 3:513.

Swiderski Z. *Echinococcus granulosus*: hook-muscle systems and cellular organisation of infective oncospheres. *Int J Parasitol*. 1983; 13:289-299.

Tamarozzi F, Rossi P, Galati F, Mariconti M, Nicoletti GJ, Rinaldi F, Casulli A, Pozio E, Brunetti E. The Italian registry of cystic echinococcosis (RIEC): the first prospective registry with a European future. *Euro Surveill*. 2015; 20(18)pii: 21115.

Tamarozzi F, Sako Y, Ito A, Piccoli L, Grisolia A, Itoh S, Gatti S, Meroni V, Genco F, Brunetti E. Recombinant AgB8/1 ELISA test vs. commercially available IgG ELISA test in the diagnosis of cystic echinococcosis. *Parasite Immunol*. 2013; 35(12):433-40.

Tamarozzi F, Vuitton L, Brunetti E, Vuitton DA, Koch S. Non-surgical and non-chemical attempts to treat echinococcosis: do they work? *Parasite* 2014; 21:75.

Tamer GS, Dündar D, Uzuner H, Baydemir C. Evaluation of immunochromatographic test for the detection of antibodies against *Echinococcus granulosus*. *Med Sci Monit.* 2015; 21:1219-1222.

Tawfeek GM, Elwakil HS, El-Hoseiny L, Thabet HS, Sarhan RM, Awad NS, Anwar WA. Comparative analysis of the diagnostic performance of crude sheep hydatid cyst fluid, purified antigen B and its subunit (12 Kda), assessed by ELISA, in the diagnosis of human cystic echinococcosis. *Parasitol Res.* 2011; 108(2):371-376.

Teggi A, Lastilla MG, De Rosa F. Therapy of human hydatid disease with mebendazole and albendazole. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993; 37:1679-1684.

Thompson RC, Dunsmore JD, Hayton AR. *Echinococcus granulosus*: secretory activity of the rostellum of the adult cestode in situ in the dog. *Exp Parasitol.* 1979; 48:144-163.

Thompson RC, Houghton A, Zaman V. A study of the microtriches of adult *Echinococcus granulosus* by scanning electron microscopy. *Int J Parasitol.* 1982; 12:579-583.

Thompson RC, Jenkins DJ. *Echinococcus* as a model system. *Int J Parasitol.* 2014; 44:865-877.

Thompson RC, Jenkins EJ, Schurer JM, Thompson RCA. *Echinococcus canadensis*, *E. borealis*, and *E. intermedius*. What's in a name? *Trends Parasitol.* 2014; 31:23-29.

Thompson RC, Lymbery AJ, Constantine CC. Variation in *Echinococcus*: towards a taxonomic revision of the genus. *Adv Parasitol.* 1995; 35:145-176.

Thompson RC, Lymbery AJ. *Echinococcus*: biology and strain variation. *Int J Parasitol.* 1990; 20:457-470.

Thompson RC, Lymbery AJ. Lets not forget the thinkers. *Trends Parasitol.* 2013; 29:581-584.

Thompson RC, Lymbery AJ. The nature, extent and significance of variation within the genus *Echinococcus*. *Adv Parasitol.* 1988; 27:210-263.

Thompson RC, McManus D. Aetiology: parasites and life-cycles. In: Eckert J, Gemmell MA, Meslin FX, Pawowski ZS (Eds.). WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: A Public Health Problem of Global Concern. World Health Organisation/World Organisation of Animal Health, Paris, 2001; pp. 1-16.

Thompson RC, McManus DP. Towards a taxonomic revision of the genus *Echinococcus*. *Trends Parasitol.* 2002; 18(10):452-457.

Thompson RC. Biology and systematics of *Echinococcus*, in: Thompson RCA (Ed.). The Biology of *Echinococcus* and Hydatid Disease. Allen and Unwin, London, 1986; pp. 5-43.

- Thompson RC. Biology and Systematics of *Echinococcus*. Adv Parasitol. 2017; 95:65-109.
- Thompson RC. Biology and systematics of *Echinococcus*. In: Thompson RCA, Lymbery AJ (Eds.). *Echinococcus* and Hydatid Disease. CAB International, Wallingford, Oxon, UK, 1995; pp. 1-50.
- Thompson RC. Echinococcosis. In: Gillespie SH, Pearson RD (Eds.). Principles and Practice of Clinical Parasitology. Wiley, Sussex, 2001; pp. 595-612.
- Thompson RC. Growth, segmentation and maturation of the British horse and sheep strains of *Echinococcus granulosus* in dogs. Int J Parasitol. 1977; 7:281-285.
- Thompson RC, Lymbery AJ. Genetic variability in parasites and host-parasite interactions. Parasitology. 1996; 112:517-522.
- Thompson RC. The taxonomy, phylogeny and transmission of *Echinococcus*. Exp Parasitol. 2008; 119:439-446.
- Thompson RC, Eckert J. The production of eggs by *Echinococcus multilocularis* in the laboratory following in vivo and in vitro development. Zeitschrift fur Parasitenkunde. 1982; 68:227-234.
- Tigre W, Deresa B, Haile A, Gabriel S, Victor B, Pelt JV, Devleesschauwer B, Vercruyse J, Dorny P. Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* s.l. cysts from cattle, camels, goats and pigs in Ethiopia. Vet Parasitol. 2016; 215:17-21.
- Tomao P, Vonesch N, D'Amico W, Melis P, Vasselli D, De Merich D, D'Ovidio MC, Martini A, Di Renzi S. Zoonosi trasmesse da zecche: rischi occupazionali e misure di prevenzione. IDEA GRAFICA S.r.l. 2009. ISBN 978-88-6230-046-9
- Torgerson PR, Burtisurnov KK, Shaikenov BS, Rysmukhambetova AT, Abdybekova AM, Ussenbayev AE. Modelling the transmission dynamics of *Echinococcus granulosus* in sheep and cattle in Kazakhstan. Vet Parasitol. 2003; 114:143-153.
- Torgerson PR, Devleesschauwer B, Praet N, Speybroeck N, Willingham AL, Kasuga F, Rokni MB, Zhou X-N, Fèvre EM, Sripa B, Gargouri N, Fürst T, Budke CM, Carabin H, Kirk MD, Angulo FJ, Havelaar A, de Silva N. World Health Organization Estimates of the Global and Regional Disease Burden of 11 Foodborne Parasitic Diseases, 2010: A Data Synthesis. PLoS Med. 2015; 12:e1001920.
- Torgerson PR, MacPherson CN. The socioeconomic burden of parasitic zoonoses: global trends. Vet Parasitol. 2011; 182(1):79-95.

Torgerson PR, Ziadinov I, Aknazarov D, Nurgaziev P, Deplazes P. Modelling the age variation of larval protoscoleces of *Echinococcus granulosus* in sheep. *Int J Parasitol.* 2009; 39:1031-1035.

Utuk AE, Simsek S. Molecular characterization of the horse isolate of *Echinococcus granulosus* in Turkey. *J Helminthol.* 2012; 87(3):305-308.

Vaizey CJ, Sanne I, Gilbert JM. Periappendiceal hydatidosis: an unusual cause of right iliac fossa pain. *Br J Surg.* 1994; 81(9):1371-1372.

van Cauteren D, Millon L, de Valk H, Grenouillet F. Retrospective study of human cystic echinococcosis over the past decade in France, using a nationwide hospital medical information database. *Parasitol Res.* 2016; 115(11):4261-4265.

Vanek M. A morphological study of hydatids of *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) from pigs. *Fol Parasitol.* 1980; 27:37-46.

Varcasia A, Canu S, Lightowlers MW, Scala A, Garippa G. Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* strains in Sardinia. *Parasitol Res.* 2006; 98:273-277.

Varcasia A, Garippa G, Pipia AP, Scala A, Brianti E, Giannetto S, Battelli G, Poglayen G, Micagni G. Cystic echinococcosis in equids in Italy. *Parasitol Res.* 2008; 102:815-818.

Varcasia A, Tanda B, Giobbe M, Solinas C, Pipia AP, Malgor R, Carmona C, Garippa G, Scala A. Cystic Echinococcosis in Sardinia: Farmers' knowledge and dog infection in sheep farms. *Veterinary Parasitology.* 2011; 181:335-340.

Vogel H. Über den *Echinococcus multilocularis* Suddeutschlands I Das Bandwurmstadium von Stämmen menschlicher und tierischer Herkunft. *Z Tropenmed Parasitol.* 1957; 8:404-454.

Wang JY, Gao CH, Steverding D, Wang X, Shi F, Yang YT. Differential diagnosis of cystic and alveolar echinococcosis using an immunochromatographic test based on the detection of specific antibodies. *Parasitol Res.* 2013; 112(10):3627-3633.

Wang Y, He T, Wen X, Li T, Waili A, Zhang W, Xu X, Vuitton DA, Rogan MT, Wen H, Craig PS. Post-survey follow-up for human cystic echinococcosis in northwest China. *Acta Trop.* 2006; 98:43-51.

Wang YH, Rogan MT, Vuitton DA, Wen H, Bartholomot B, Macpherson CN, Zou PF, Ding ZX, Zhou HX, Zhang XF, Luo J, Xiong HB, Fu Y, McVie A, Giraudoux P, Yang WG, Craig PS. Cystic echinococcosis in semi-nomadic pastoral communities in north-west China. *T Roy Soc Trop Med H.* 2001; 95:153-158.

Wassermann M, Aschenborn O, Aschenborn J, Mackenstedt U, Romig T. A sylvatic lifecycle of *Echinococcus equinus* in the Etosha National Park, Namibia. *Int J Parasitol Parasites and Wildl.* 2015; 4:97-103.

Westrell T, Ciampa N, Boelaert F, Helwigh B, Korsgaard H, Chr iel M, Ammon A, M kel  P. Zoonotic infections in Europe in 2007: a summary of the EFSA-ECDC annual report. *Euro Surveill.* 2009; 14(3):pii: 19100.

Whitfield PJ, Evans NA. Pathogenesis and asexual multiplication among parasitic platyhelminths. *Parasitology.* 1983; 86:121-160.

WHO. WHO Informal Working Group on Echinococcosis. Puncture-Aspiration-Injection-Re-aspiration. An Option for the Treatment of Cystic Echinococcosis. 2001. WHO/CDS/CSR/APH/2001.6.

WHO. Report of the WHO Informal Working Group on cystic and alveolar echinococcosis surveillance, prevention and control, with the participation of the Food and Agriculture Organization of the United Nations and the World Organisation for Animal Health. Geneva, Switzerland, 2011.

WHO. WHO Informal Working Group. International classification of ultrasound images in cystic echinococcosis for application in clinical and field epidemiological settings. *Acta Trop.* 2003; 85(2):253-261.

WHO. World Health Organization. Bacterial and viral zoonoses. Report of a WHO Expert Committee with the participation of FAO. Geneva 1982.

WHO. World Health Organization. Fact Sheet. Echinococcosis N 377, 2016.

WHO. World Health Organization. Joint WHO/FAO Expert Committee on Zoonoses. Technical Report Series. Geneva: World Health Organization. 1959; 169.

WHO. World Health Organization. Technical Advisory Group on Human Monkeypox: Report of a WHO Meeting Geneva, Switzerland, 11-12 January 1999.

WHO/FAO. World Health Organization (Technical report series n. 573)/Food and Agriculture Organization of the United Nations (Agricultural studies n. 96). The veterinary contribution to public health practice. Report of a Joint FAO/WHO Expert Committee on Veterinary Public Health. 1975. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/38156/1/WHO_TRS_573_eng.pdf

WHO/OIE. Eckert, J, Gemmell MA, Meslin F-X, Pawlowski Z. (Eds.). WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: A Public Health Problem of Global Concern. World Health Organisation for Animal Health, Paris, 2001.

- Williams JF, Colli CW. Primary cystic infection with *Echinococcus granulosus* and *Taenia hydatigena* in *Meriones unguiculatus*. *J Parasitol.* 1970; 56:509-513.
- Xiao N, Qiu J, Nakao M, Li T, Yang W, Chen X, Schantz PM, Craig PS, Ito A. *Echinococcus shiquicus* n. sp., a taeniid cestode from Tibetan fox and plateau pika in China. *Int J Parasitol.* 2005; 35:693–701.
- Xiao N, Qiu J, Nakao M, Li T, Yang W, Chen X, Schantz PM, Craig PS, Ito A. *Echinococcus shiquicus*, a new species from the Qinghai-Tibet plateau region of China: discovery and epidemiological implications. *Parasitol Int.* 2006; 55(Suppl):S233–S236.
- Yagci G, Ustunsoz B, Kaymakcioglu N, Bozlar U, Gorgulu S, Simsek A, Akdeniz A, Cetiner S, Tufan T. Results of surgical, laparoscopic, and percutaneous treatment for hydatid disease of the liver: 10 years experience with 355 patients. *World J Surg.* 2005; 29:1670-1679.
- Yang YR, Craig PS, Vuitton DA, Williams GM, Sun T, Liu TX, Boufana B, Giraudoux P, Teng J, Li Y, Huang L, Zhang W, Jones MK, McManus DP. Serological prevalence of echinococcosis and risk factors for infection among children in rural communities of southern Ningxia, China. *Trop Med Int Health.* 2008; 13:1086-1094.
- Yang YR, Sun T, Li Z, Zhang J, Teng J, Liu X, Liu R, Zhao R, Jones MK, Wang Y, Wen H, Feng X, Zhao Q, Zhao Y, Shi D, Bartholomot B, Vuitton DA, Pleydell D, Giraudoux P, Ito A, Danson MF, Boufana B, Craig PS, Williams GM, McManus DP. Community surveys and risk factor analysis of human alveolar and cystic echinococcosis in Ningxia Hui Autonomous Region, China. *B World Health Organ.* 2006; 84:714-721.
- Zargar SA, Khuroo MS, Khan BA, Dar MY, Alai MS, Koul P. Intrabiliary rupture of hepatic hydatid cyst: sonographic and colangiographic appearances. *Gastrointestinal Radiol.* 1992; 17:41-45.
- Zarzosa MP, Orduña Domingo A, Gutiérrez P, Alonso P, Cuervo M, Prado A, Bratos MA, García-Yuste M, Ramos G, Rodríguez Torres A. Evaluation of six serological tests in diagnosis and postoperative control of pulmonary hydatid disease patients. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1999; 35(4):255-262.
- Zhang W, Li J, McManus DP. Concepts in immunology and diagnosis of hydatid disease. *Clin Microbiol Rev.* 2003; 16(1):18-36.
- Zhang W, McManus DP. Recent advances in the immunology and diagnosis of echinococcosis. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2006; 47(1):24-41.

Zhang W, Wen H, Li J, Lin R, McManus DP. Immunology and immunodiagnosis of cystic echinococcosis: an update. *Clin Dev Immunol.* 2012; 2012:101895.

Zibaei M, Azargoon A, Ataie-Khorasgani M, Ghanadi K, Sadjjadi SM. The serological study of cystic echinococcosis and assessment of surgical cases during 5 years (2007-2011) in Khorram Abad, Iran. *Niger J Clin Pract.* 2013; 16(2):221-225.

Zlitni M, Ezzaouia K, Lebib H, Karray M, Kooli M, Mestiri M. Hydatid cyst of bone: diagnosis and treatment. *World J Surg.* 2001; 25:75-82.

Zmerli S, Ayed M, Horchani A, Chami I, El Ouakdi M, Ben Slama MR. Hydatid cyst of the kidney: diagnosis and treatment. *World J Surg.* 2001; 25:68-74.

9. ALLEGATI

ALLEGATO A (Questionario clinico-anamnestico Lavoratori)

ALLEGATO B (Questionario clinico-anamnestico Donatori)



Allegato A - QUESTIONARIO CLINICO-ANAMNESTICO (LAVORATORI)

1. GENERE M F
2. ANNO DI NASCITA.....
3. LUOGO DI NASCITA.....PROVINCIA.....
4. LUOGO DI RESIDENZA.....PROVINCIA.....
5. PROFESSIONE PREGRESSA (indicare anche più di una risposta)
 AGRICOLTORE ALLEVATORE VETERINARIO
 ALTRO (specificare).....
6. MANSIONE SPECIFICA SVOLTA ATTUALMENTE.....
Da quanti anni svolge questa mansione/attività?.....
7. SA' COS'è L'ECHINOCOCCOSI? SI NO

Se SI risponde alle domande riportate nel riquadro sottostante altrimenti passi alla domanda n. 7

- A. L'UOMO PUO' AMMALARSI? SI NO
- B. CONOSCE QUALCUNO CHE HA AVUTO PROBLEMI DI ECHINOCOCCOSI? SI NO
- C. CHI? (specificare).....
- D. CHI PUO' TRASMETTERLA?
 INSETTI ANIMALI DOMESTICI ANIMALI SELVATICI CANE
 ALTRO (specificare).....
- E. IN CHE MODO SI PUO' TRASMETTERE?
 PER CONTATTO DA UN ANIMALE DALL'ACQUA DALLA VERDURA
 DALLA CARNE ALTRO (specificare).....
- F. DOVE TROVA L'ECHINOCOCCO?
 SUI VESTITI NELL'ACQUA SULLA CARNE NEL TERRENO
 ALTRO (specificare).....
- G. COSA FA PER PREVENIRE LA DIFFUSIONE DELL'ECHINOCOCCOSI? (Elenchi eventuali azioni effettuate in tal senso)
.....
.....
.....
- H. QUALI ACCORGIMENTI E/O PRECAUZIONE PENSA SIA MEGLIO ADOTTARE PER NON





CONTRARRE L'ECHINOCOCCOSI? (specificare)

.....
.....
.....

8. SONO PRESENTI CANI NELL'ALLEVAMENTO? SI NO

Se SI risponda alle domande riportate nel riquadro sottostante altrimenti passi alla domanda n. 8

I. QUANTI?.....

J. SONO ISCRITTI ALL'ANAGRAFE CANINA? SI NO

K. DOVE VENGONO TENUTI?

CASA GIARDINO CAMPAGNA

ALTRO (specificare).....

L. COSA VIENE DATO DA MANGIARE AI CANI PRESENTI IN ALLEVAMENTO?

CROCCANTINI PER CANI CIBO UMIDO PER CANI AVANZI ALIMENTARI

ALTRO (specificare).....

M. SI OCCUPA LEI DELLA PULIZIA DEI CANI? SI NO

Se SI CON QUALE PERIODICITA'?.....

N. VIENE LAVATA PERIODICAMENTE LA CIOTOLA DELL'ACQUA E DEL CIBO? SI NO

Se SI CON QUALE PERIODICITA'?.....

O. VIENE EFFETTUATA LA PERIODICA SVERMINAZIONE DEI CANI? SI NO

Se SI CON QUALE PERIODICITA'?.....

E CON QUALE FARMACO?.....

P. I RESIDUI DI MACELLAZIONE COME VENGONO SMALTITI?

VENGONO DATI (CRUDI) AI CANI VENGONO BUTTATI NEL CASSONETTO

VENGONO SOTTERRATI VENGONO BOLLITI PER I CANI

9. ABITUALMENTE CHE TIPO DI ACQUA CONSUMA?

FONTE RUBINETTO IMBOTTIGLIATA

10. COME LAVA LE VERDURE/ORTAGGI PRIMA DI CONSUMARLI CRUDI?

NON LE LAVO LE LAVO SOTTO ACQUA CORRENTE

A BAGNO CON BICARBONATO O ALTRO PRODOTTO (es. AMUCHINA)





UMBERTO I
POLICLINICO DI ROMA

**DIPARTIMENTO
DI SANITÀ PUBBLICA
E MALATTIE INFETTIVE**



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

Sezione di Parassitologia 'E. Biocca'
Prof. Stefano D'Amelio

- ALTRO (specificare).....
11. QUALE VERDURA/ORTAGGI CONSUMA PIU' FREQUENTEMENTE CRUDU? LATTUGA; ICEBERG;
POMODORI; CAROTE...
12. LE CAPITA DI DIMENTICARSI DI LAVARSI LE MANI PRIMA DI CONSUMARE DEL CIBO?
SI NO
- Se SI, IN QUALI CASI?
- DOPO AVER MANEGGIATO CARNE CRUDA DOPO AVER LAVORATO IN
GIARDINO DOPO ESSERSI OCCUPATO DELLA PULIZIA DELLA CASA DOPO
AVER CAMBIATO LE CALZATURE CHE NORMALMENTE UTILIZZA FUORI CASA
- ALTRO (specificare).....
-
13. SI OCCUPA PERSONALMENTE DELLA PULIZIA DELLA SUA CASA? SI NO
14. SI OCCUPA DI GIARDINAGGIO E/O ORTICOLTURA? SI NO
15. HA MAI FATTO UN'ECOGRAFIA TORACICA E/O ADDOMINALE? SI NO
- Se SI, PER QUALE MOTIVO?.....
-

Rev. N° 1 del 22/04/2015

3/3

Azienda Policlinico Umberto I
Viale del Policlinico, 155 - 00161 Roma
Centralino: 06 49971
C.F. e P.IVA 05865511009



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

Allegato B - QUESTIONARIO CLINICO-ANAMNESTICO (CONTROLLI)

1. GENEREM F
2. ANNO DI NASCITA.....
3. LUOGO DI NASCITA.....PROVINCIA.....
4. LUOGO DI RESIDENZA.....PROVINCIA.....
5. PROFESSIONE ATTUALE E/O PREGRESSA (indicare anche più di una risposta)
 AGRICOLTORE ALLEVATORE GIARDINIERE VETERINARIO MACELLAIO
 ALTRO (specificare).....

6. SA' COS'è L'ECHINOCOCCOSI? SI NO

Se SI risponde alle domande riportate nel riquadro sottostante altrimenti passi alla domanda n. 7

- A. L'UOMO PUO' AMMALARSI? SI NO
- B. CONOSCE QUALCUNO CHE HA AVUTO PROBLEMI DI ECHINOCOCCOSI? SI NO
- C. CHI? (specificare).....
- D. CHI PUO' TRASMETTERLA?
 INSETTI ANIMALI DOMESTICI ANIMALI SELVATICI CANE
 ALTRO (specificare).....
- E. IN CHE MODO SI PUO' TRASMETTERE?
 PER CONTATTO DA UN ANIMALE DALL'ACQUA DALLA VERDURA
 DALLA CARNE ALTRO (specificare).....
.....
- F. DOVE TROVA L'ECHINOCOCCO?
 SUI VESTITI NELL'ACQUA SULLA CARNE NEL TERRENO
 ALTRO (specificare).....
- G. QUALI ACCORGIMENTI E/O PRECAUZIONE PENSA SIA MEGLIO ADOTTARE PER NON CONTRARRE L'ECHINOCOCCOSI? (specificare)
.....
.....
.....

7. HA CANI? SI NO

Se SI risponde alle domande riportate nel riquadro sottostante altrimenti passi alla domanda n. 8



- H. QUANTI?.....
- I. SONO ISCRITTI ALL'ANAGRAFE CANINA? SI NO
- J. DOVE LI TIENE?
 CASA GIARDINO CAMPAGNA
 ALTRO (specificare).....
- K. PER COSA LI TIENE?
 COMPAGNIA CACCIA GUARDIA
 ALTRO (specificare).....
- L. COSA DA' DA MANGIARE AI SUOI CANI?
 CROCCANTINI PER CANI CIBO UMIDO PER CANI AVANZI ALIMENTARI
 ALTRO (specificare).....
- M. SI OCCUPA PERSONALMENTE DELLA PULIZIA DEI SUOI CANI? SI NO
 Se SI CON QUALE PERIODICITA'?.....
- N. LAVI PERIODICAMENTE LA CIOTOLA DELL'ACQUA E DEL CIBO? SI NO
 Se SI CON QUALE PERIODICITA'?.....
- O. FA VISITARE PERIODICAMENTE I SUOI CANI DAL VETERINARIO? SI NO
 Se SI CON QUALE PERIODICITA'?.....
- P. EFFETTUA PER I SUOI CANI LA SVERMINAZIONE PERIODICA? SI NO
 Se SI CON QUALE PERIODICITA'?.....
 E CON QUALE FARMACO?.....

8. ABITUALMENTE CHE TIPO DI ACQUA CONSUMA?
 FONTE RUBINETTO IMBOTTIGLIATA
9. COME LAVI LE VERDURE/ORTAGGI PRIMA DI CONSUMARLI CRUDI?
 NON LE LAVO LE LAVO SOTTO ACQUA CORRENTE
 A BAGNO CON BICARBONATO O ALTRO PRODOTTO (es. AMUCHINA)
 ALTRO (specificare).....
10. QUALE VERDURA/ORTAGGI CONSUMA PIU' FREQUENTEMENTE CRUDA? LATTUGA; ICEBERG;
 POMODORI; CAROTE...
11. LE CAPITA DI DIMENTICARSI DI LAVARSI LE MANI PRIMA DI CONSUMARE DEL CIBO? SI NO
 Se SI, IN QUALI CASI?