



# **Atti del XVI Convegno Nazionale S.I.P.I.**



**27-29 maggio 2010**

**Orvieto (TR)**

Sala Convegni della Fondazione

Cassa di Risparmio di Orvieto

Palazzo Coelli

**ATTI DEL**  
**XVI CONVEGNO NAZIONALE S.I.P.I.**  
**Società Italiana di Patologia Ittica**



**27-29 maggio 2010**

**Orvieto (TR)**

---

---

*Con la collaborazione di:*



FONDAZIONE CASSA DI  
RISPARMIO DI ORVIETO

---

---

*Sponsor e collaboratori nell'organizzazione  
del XVI Convegno S.I.P.I.*



Associazione Piscicoltori Italiani



Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
dell'Umbria e delle Marche

*Sponsor del XVI Convegno S.I.P.I.*

---



**Erede Rossi Silvio**  
azienda agricola trocicoltura



# PROGRAMMA

# **XVI CONVEGNO NAZIONALE S.I.P.I. Società Italiana di Patologia Ittica**

*in collaborazione con  
IZS dell'Umbria e delle Marche,  
ASL4 dell'Umbria,  
Ordine dei Medici Veterinari della Provincia di Terni*

27-29 maggio 2010

Sala Convegni della Fondazione Cassa di Risparmio di Orvieto  
Palazzo Coelli, Piazza Febei, 3 - ORVIETO (TR)



---

## **GIOVEDÌ 27 MAGGIO 2010**

**ORE 14.00-14.30** REGISTRAZIONE DEI PARTECIPANTI ED ISCRIZIONE AL CONVEGNO

**ORE 14.30-15.00** APERTURA DEI LAVORI E SALUTO DELLE AUTORITÀ

Prof.ssa Maria Letizia Fioravanti (Presidente SIPI)

Dott. Silvano Severini (Direttore Generale IZSUM)

Dott. Claudio Ghittino, Dott. Danilo Serva, Dott. Marco Cristofori

(Comitato organizzatore locale)

## **PRIMO INCONTRO TECNICO-SCIENTIFICO S.I.P.I.**

*in collaborazione con  
Associazione Piscicoltori Italiani*



PRIMA PARTE – **FARMACO E SANITA' IN ACQUACOLTURA**

- ORE 15.00 – 15.30           **AGGIORNAMENTI SUL FARMACO IN ACQUACOLTURA**  
P. SALVADOR (API, Verona)
- ORE 15.30 – 16.00           **STATO DI APPLICAZIONE DELLA DIRETTIVA 2006/88 IN ITALIA**  
G. BOVO, A. MANFRIN, G. ARCANGELI (IZSVE, LEGNARO – PD)
- ORE 16.00 – 16.30           DISCUSSIONE ED INTERVENTI PRATICI
- ORE 16.30 – 17.00           COFFEE BREAK

SECONDA PARTE – ***PATOLOGIE NUTRIZIONALI EMERGENTI***

- ORE 17.00 - 17.30           **IL PUNTO DI VISTA DEL NUTRIZIONISTA**  
E. TIBALDI (UNIUD – UDINE)
- ORE 17.30 – 18.00           **IL PUNTO DI VISTA DEL PATOLOGO**  
P. BERALDO (UNIUD – UDINE)
- ORE 18.00 – 19.00           DISCUSSIONE ED INTERVENTI PRATICI

**VENERDÌ 28 MAGGIO 2010****WORKSHOP****“BENESSERE E SPERIMENTAZIONE ANIMALE IN ACQUACOLTURA”**

*in collaborazione con  
Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche*

- ORE 08.30 - 09.00           REGISTRAZIONE PARTECIPANTI E SALUTO DELLE AUTORITÀ
- MODERATORE: DOTT. DANILO SERVA  
(ASL4 dell'Umbria, Ordine dei Medici Veterinari della Provincia di Terni)
- ORE 09.00 – 09.30           **PANORAMICA SUL BENESSERE DEI PESCI**  
DOTT. CLAUDIO GHITTINO (IZSUM, Terni)
- ORE 09.30 – 10.30           **BENESSERE E BUONE PRATICHE DI ALLEVAMENTO**  
DOTT.SSA GIOVANNA MARINO (ISPRA, ROMA)
- ORE 10.30 – 11.00           **IL TRASPORTO E LA MACELLAZIONE DEI PESCI**  
DOTT. AMEDEO MANFRIN (IZSVE, LEGNARO - PD)
- ORE 11.00 – 11.15           COFFEE BREAK

- ORE 11.15 – 12.15 **BENESSERE E QUALITA' DEI PRODOTTI ITTICI**  
PROF.SSA BIANCA MARIA POLI (UNIFI, FIRENZE)
- ORE 12.15– 12.45 **LA SPERIMENTAZIONE SUI PESCI: QUADRO NORMATIVO**  
DOTT. FRANCO MUTINELLI (IZSVE, LEGNARO - PD)
- ORE 12.45 – 13.15 **ESPERIENZE IN ITALIA SULLA SPERIMENTAZIONE NEI PESCI**  
PROF. FABIO MARINO (UNIME, MESSINA)
- ORE 13.15 – 13.30 **CONCLUSIONI AL WORKSHOP SUL BENESSERE E SULLA SPERIMENTAZIONE ANIMALE IN ACQUACOLTURA**  
DOTT. C. GHITTINO, DOTT. E. DI RAIMO (IZSUM, Terni)
- ORE 13.15 – 14.00 **DISCUSSIONE FINALE**  
DOTT. CLAUDIO GHITTINO (IZSUM, Terni)
- ORE 14.00 – 15.00 PAUSA PRANZO**
- Ore 15.00-16.20 COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE - I SESSIONE**  
Moderatore Dott. Cristian Salogni (IZSLER, Brescia)
- Ore 15.00-15.20 **REACT RTGE: un approccio nutrizionale al controllo della *Rainbow Trout Gastro Enteric Syndrome***  
Cervellione F., Sarti M., Rogato F., Luzzana U.
- Ore 15.20-15.40 **Effetto della dieta su parametri immunologici, fisiologici e zootecnici nell'orata (*Sparus aurata*) in condizioni invernali**  
Cervellione F., Rogato F., Perini F., Agonigi R., Luzzana U.
- Ore 15.40-16.00 **Episodi di mortalità da *Betanodavirus* in branzini (*Dicentrarchus labrax*) allevati in vasche a terra in contesto vallivo**  
Fagioli P., Grodzki M., Ciulli S.
- Ore 16.00-16.20 **Caratterizzazione filogenetica di ceppi di *Betanodavirus* isolati nel bacino del Mediterraneo**  
Panzarin V., Fusaro A., Monne I., Rampazzo E., Cappellozza E., Toffan A., Bovo G., Cattoli G.
- Ore 16.20-16.45 COFFEE BREAK**

**Ore 16.45-18.25****COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE - II SESSIONE**

Moderatore Dott.ssa Teresa Bossù (IZSLT, Roma)

Ore 16.45-17.05

**Ritrovamento di *Betanodavirus* in molluschi bivalvi e analisi molecolare dei ceppi evidenziati**

Grodzki M., Bignami G., Serratore P., Ciulli S.

Ore 17.05-17.25

**Detection of *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* by Duplex PCR**

Corrarati B., Magnabosco C., Zambon M., Rosteghin M., Manfrin A.

Ore 17.25-17.45

***Yersinia ruckeri* in storione siberiano (*Acipenser baeri*): descrizione di un episodio in un allevamento nel Nord Italia**

Salogni C., Cervellione F., Zanoni M., Giovannini S., Alborali G.L.

Ore 17.45-18.05

**Parametri immunitari nella valutazione del processo ontogenetico del timo di spigola (*Dicentrarchus labrax*) e loro modulazione nella risposta vaccinale**

Tiscar P.G., Mosca F., Malatesta D., Ceccarelli G., Brunetti A., Galeotti M., Volpatti D., Bulfon C., Abelli L., Bertoni F., Romano N.

Ore 18.05-18.25

**Valutazione dell'eventuale presenza di residui di farmaci nei tessuti edibili di trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*) lungo tutta la filiera produttiva**

Di Salvo A., della Rocca G., Malvisi J.

**ORE 18.30****ASSEMBLEA SOCI****ORE 21.00****CENA SOCIALE****SABATO 29 MAGGIO 2010****Ore 08.30-10.10****COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE - III SESSIONE**

Moderatore Prof. Francesco Quaglio (UNIPD, Padova)

Ore 08.30-08.50

**Aggiornamento sull'infezione da *Aeromonas complex sobria* nella spigola**

Anzalone L., Cari R., Masini L., Potenziani S., Rogato F., Latini M., Ottaviani D., Ghittino C.

- Ore 08.50-09.10 **Segnalazione di casi di infezione da *Yersinia ruckeri* biotipo 2 in Italia**  
Anzalone L., Ghittino C.
- Ore 09.10-09.30 **Approccio diagnostico ad un caso di micobatteriosi in ibridi di persico spigola**  
Agnetti F., Biagetti M., D'Avino N., Manuali E., Mazzone P., Sola D., Pacciarini M.L., De Montis A., Ghittino C.
- Ore 09.30-09.50 **Osservazioni preliminari sugli aspetti sanitari delle prime fasi d'allevamento del tonno rosso (*Thunnus thynnus*) in Italia**  
Gustinelli A., Campana M., Fioravanti M.L., Florio D., Caffara M., Quaglio F., Caggiano M., De Metrio G.
- Ore 09.50-10.10 **Diffusione dell'opistorchiasi nella tinca in Umbria**  
Di Raimo E., Gustinelli A., Crotti S., Lo Vaglio G., Serva D., Marchetti T., Fioravanti M.L., Ghittino C.
- ORE 10.10-10.30** COFFEE BREAK
- Ore 10.30-11.50** **COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE - IV SESSIONE**  
Moderatore Dott.ssa Monica Caffara (UNIBO, Bologna)
- Ore 10.30-10.50 **Parasites of wild European sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) from St. Gilla Lagoon (Sardinia, South Western Mediterranean)**  
Culurgioni J., De Murtas R., Figus V.
- Ore 10.50-11.10 ***Lernaolophus sultanus* in specie ittiche mediterranee di interesse commerciale: localizzazione e danno tissutale indotto**  
Bonfiglio R., Manganaro M., Gaglio G., Macrì B., Lanteri G., Marino F.
- Ore 11.10-11.30 **Telohaniasi in gambero di fiume *Austropotamobius pallipes* complex in un corso d'acqua della provincia di Belluno**  
Quaglio F., Capovilla P., Fioravanti M.L., Gustinelli A., Marino F., Laurà R., Florio D., Fioretto B.
- Ore 11.30-11.50 **Potenziale impiego di sostanze naturali in acquacoltura: valutazione di tollerabilità su spigola (*Dicentrarchus labrax*) ed orata (*Sparus aurata*) dell'estratto di Neem cake (*Azadirachta indica*)**  
Guandalini E., Bronchini S., Bennati L., Nicoletti M.

**ORE 11.50-13.00**

SESSIONE POSTER

Moderatore Dott. Mario Latini (ISZUM, Ancona)

- Ore 11.50-12.00 **Effetto virucida di un disinfettante commerciale contro *Betanodavirus***  
Volpe E., Grodzki M., Boscolo Palo D., Ciulli S.
- Ore 12.00-12.10 **Cryptobiosi gastrica in Ciclidi ornamentali**  
Gustinelli A., Quaglio F., Salvagiani P., Caffara M., Fioravanti M.L.
- Ore 12.10-12.20 **Primo ritrovamento del protozoo *Marteilia refringens* lungo le coste campane**  
Carella F., Aceto S., Maiolino P., De Vico G.
- Ore 12.20-12.30 **Ricerche sulla presenza di *Tetracapsuloides bryosalmonae* (Myxozoa, Malacosporea) in briozoi e trote d'allevamento in Italia**  
Gustinelli A., Giorgi I., Cavina R., Caffara M., Fioravanti M.L., Prearo M.
- Ore 12.30-12.40 **Helminth parasites of European eel *Anguilla anguilla* L. from St. Gilla Lagoon (Sardinia, South Western Mediterranean)**  
Culurgioni J., De Murtas R., Figus V.
- Ore 12.40-12.50 **Segnalazione di *Philometra spicarae* n. sp. in *Spicara smaris* (Centranchidae, Perciformes) nel Mar Ionio**  
Gaglio G., Marino F., Ferlazzo M., De Domenico E., Zizzo N., Moravec F.
- Ore 12.50-13.00 Altri poster  
**Indagine sulla prevalenza e sull'antibiotico resistenza di *Vibrio* spp. isolati da prodotti ittici**  
Costa A., Alio V., Masini L., Russo Alesi E.M., Di Noto A.M.
- Attivazione del primo network nazionale di ricerca sulla Fotobatteriosi**  
Prearo M., Bozzetta E., Bossù T., Castiglione F., Centoducati G., De Carlo E., Fioravanti M.L., Ghittino C., Giorgi I., Manfrin A., Minardi D., Righetti M., Rubini S., Salati F., Serracca L., Ercolini C.
- Presenza di *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida* in cefali (*Mugil cephalus* e *Liza aurata*)**  
Serracca L., Prearo M., Rossini I., Battistini R., Giorgi I., Ercolini C.

**Micobatteriosi e rene policistico in *Carassius auratus*: contributo personale**

Caristina G., Marino F., Giorgianni P., Perillo A., Macrì F.

**Ritrovamento di *Aspidogaster limacoides* Diesing, 1835 in *Rutilus pigus* (Lacepède, 1803) proveniente dal Lago Maggiore, Italia**

Minardi D., Paladini G., Righetti M., Arsieni P., Pavoletti E., Prearo M.

**Osservazioni sulla diffusione di *Anisakis* spp. in prodotti ittici provenienti dalle coste siciliane**

Costa A., Palumbo P., Macrì D., Sciortino S.

**Esposizione a nonilfenolo di giovanili di tinca (*Tinca tinca*, Linnaeus 1758): rilievi istologici e determinazione dei livelli tiroidei**

Zaccaroni A., Sirri R., Mordenti O., Parmeggiani A., Mandrioli L.

**Tracciabilità del pescato**

Di Bella C., Lo Monaco D., Caracappa C., Priulla V., Tringali L., Morten E., Marciànò G., Graziano R.

**ORE 13.00-13.30**

Premiazioni

Dott. Marino PREARO (IZSPLV, Torino)

**PREMIAZIONE TESI - Proclamazione del vincitore del premio S.I.P.I. per la miglior tesi su argomenti di Ittiopatologia**

**PREMIAZIONE MIGLIORE COMUNICAZIONE - Proclamazione del vincitore del premio S.I.P.I. per la migliore comunicazione**

**PREMIAZIONE MIGLIOR POSTER - Proclamazione del vincitore del premio S.I.P.I. per il miglior poster**

**13.30**

**CHIUSURA DEI LAVORI CONGRESSUALI**

# **ABSTRACT**

## **Primo Incontro Tecnico-Scientifico S.I.P.I.**

## AGGIORNAMENTI SUL FARMACO IN ACQUACOLTURA

Salvador P.

*Presidente Associazione Piscicoltori Italiani, Verona*

Il numero di medicinali veterinari autorizzati per l'acquacoltura in Italia è limitato, anche a causa di un sistema regolatorio comunitario che rende difficoltoso ed economicamente non conveniente per le aziende farmaceutiche lo sviluppo e la registrazione di medicinali per un mercato di piccole dimensioni quale quello dell'acquacoltura in alcuni S.M. che non garantisce ritorni economici proporzionati agli investimenti necessari all'ottenimento dell'autorizzazione all'immissione in commercio.

Questo a differenza di altre aree geografiche quali ad esempio il sud-est asiatico nelle quali l'acquacoltura ha conosciuto un enorme sviluppo e dispone, anche in virtù di regolamentazioni meno rigorose, di un gran numero di farmaci, alcuni dei quali proibiti nella UE e che possono essere quindi presenti come residui in prodotti di importazione.

Tuttavia, all'interno dell'UE ci sono notevoli disparità sulla possibilità dell'utilizzo di medicinali autorizzati in acquacoltura (es. in Regno Unito ci sono 16 principi attivi autorizzati, in Italia 5), questo crea non pochi disagi, differenze nel costo di produzione e sul benessere dei pesci: disporre di medicinali in grado di curare patologie specifiche è necessario al fine di garantire la salute e il benessere degli animali e di prospettare un uso prudente e razionale dei farmaci.

La FEAP allo scopo di definire un quadro d'insieme e comunicarlo alla Commissione e stimolare una revisione dell'attuale normativa in materia ha svolto una ricognizione dei farmaci veterinari dei paesi EU disponibili in acquacoltura.

Il numero di medicinali registrati per l'uso in acquacoltura in Italia è limitato ed include: ossitetraciclina, clorotetraciclina, flumechina, amoxicillina, sulfadiazina in associazione con trimetoprim, da somministrare sotto forma di alimento medicamentoso.

In questo quadro, una delle opzioni possibili per aumentare in Italia la disponibilità di medicinali veterinari per l'acquacoltura consiste nell'importazione di medicinali veterinari autorizzati per l'acquacoltura in altri paesi.

Una strada da percorrere è sicuramente quella di valorizzare il "processo a cascata", favorendo però l'introduzione da altri S.M. di medicinali registrati per l'acquacoltura tra quelli di interesse per la nostra acquacoltura piuttosto che utilizzare "in deroga" farmaci autorizzati per altre specie animali di interesse zootecnico.

Lo sviluppo di Linee guida concertate tra i diversi operatori della filiera del farmaco in acquacoltura può garantire un utilizzo sicuro ed efficace dei medicinali.

**STATO DI APPLICAZIONE DELLA DIRETTIVA 2006/88 IN ITALIA**

Bovo G., Manfrin A., Arcangeli G.

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie. Centro di Referenza Nazionale per le malattie dei pesci, crostacei e molluschi*

La Direttiva 2006/88/CE, relativa alle condizioni di polizia sanitaria applicabili alle specie animali d'acquacoltura e ai relativi prodotti, è stata recepita dalla normativa nazionale tramite il Decreto Legislativo 4 agosto 2008, n. 148. Nella nuova legislazione, oltre a riunire in un unico documento le norme relative a tutte le specie allevate (pesci, crostacei e molluschi), a rivedere l'elenco delle malattie notificabili (esotiche e non esotiche), ad affrontare la problematica delle specie vettrici, per la prima volta sono stati introdotti i concetti di registrazione, di autorizzazione sanitaria e di sorveglianza basata sull'analisi del rischio

In particolare il D.Lgs. 148/2008 introduce, rispetto alla precedente normativa, nuove disposizioni che vanno oltre agli aspetti di puro controllo, affidando agli allevatori importanti compiti, quale la sorveglianza sanitaria del proprio allevamento.

L'attenzione del legislatore non si rivolge solo ed esclusivamente alle patologie notificabili, per le quali gli SM hanno già concordato la possibilità di poter attivare programmi di controllo o, nel caso delle patologie esotiche, l'immediata estinzione del focolai per evitarne la diffusione sul territorio, ma viene estesa ad ogni patologia in grado di causare perdite significative al settore.

Il decreto prevede infatti che, parallelamente al servizio veterinario ufficiale, a cui sono demandate le attività di vigilanza per le malattie notificabili, gli allevatori debbano attuare, utilizzando i servizi specializzati privati, la sorveglianza sanitaria, sulle patologie più significative, con particolare riferimento a quelle emergenti.

L'istituzione del servizio di sorveglianza sanitaria privata potrebbe rappresentare, per gli allevatori, lo strumento indispensabile per attivare misure di prevenzione, proposte dagli stessi allevatori ed attuate dai servizi sanitari qualificati, in collaborazione con i servizi veterinari ufficiali.

Ciò che invece il decreto non prevede e di cui, probabilmente gli allevatori potrebbero trarre un vantaggio, è un vero e proprio osservatorio epidemiologico, in grado di raccogliere e far confluire, in un unico centro, i risultati in possesso dei servizi ufficiali e di quelli privati.

L'elaborazione di tali dati costituirebbe, per l'autorità sanitaria, ma soprattutto per gli allevatori, lo strumento indispensabile per poter valutare lo stato sanitario dell'acquacoltura nazionale, verificare l'incidenza delle varie patologie e valutare gli interventi più idonei, in particolare nei confronti delle malattie emergenti, al fine di evitare, come avvenuto in passato, la diffusione capillare sul territorio di gravi patologie come la lattococcosi e la setticemia emorragica virale .

Ovviamente il D.Lgs. 148/2008 mantiene ampia attenzione alle aziende che intendono acquisire, o che hanno già raggiunto, lo status di azienda indenne; in questi casi il controllo resta fermamente demandato al servizio veterinario ufficiale, se pur in collaborazione con tutte le figure che partecipano al raggiungimento dell'obiettivo finale, primo fra tutti l'allevatore stesso.

Elemento fondamentale per avviare ogni attività di sorveglianza è il censimento di tutti i siti produttivi. Pertanto l'istituzione del registro nazionale di acquacoltura, fino ad oggi non previsto, rappresenta un ulteriore passo fondamentale per poter applicare appieno la normativa .

L'autorizzazione delle aziende rappresenta un'altra misura introdotta dal decreto, secondo la quale ogni azienda, oltre a dotarsi del registro aziendale già previsto dalla precedente normativa, dovrà dimostrare di operare secondo buone prassi igieniche e di aver attivato il programma di sorveglianza sanitaria. Inoltre, per la prima volta, con questo decreto viene coinvolta anche la figura dell'OSA (Operatore Settore Alimentare), in quanto tramite le operazioni di commercio/lavorazione dei prodotti ittici e/o dei molluschi, lo stesso potrebbe contribuire al diffondersi delle patologie notificabili.

Per favorire la crescita sanitaria delle aziende di acquacoltura è stata inoltre introdotta la categorizzazione delle aziende, con cinque distinte posizioni in funzione dello stato sanitario posseduto, ma con la possibilità di poter avanzare di posizione dallo status di azienda infetta fino a quello di azienda indenne, attraverso programmi di eradicazione e di sorveglianza.

Ovviamente l'appartenenza alla categoria di eccellenza, ovvero lo status di azienda indenne, consente la totale apertura nei confronti della movimentazione degli animali, contrariamente a quanto previsto per le aziende infette, il cui materiale potrà essere inviato esclusivamente ad aziende di pari stato sanitario o alla macellazione per il consumo umano. Unica nota dolente, a causa della complessità della normativa, il fatto che a tutt'oggi non sono ancora usciti i Decreti Ministeriali che regolamentano l'anagrafica e le procedure di autorizzazione delle imprese di acquacoltura, creando non poche difficoltà sia al servizio veterinario ufficiale che agli operatori del settore.

## **PATOLOGIE NUTRIZIONALI EMERGENTI: IL PUNTO DI VISTA DEL NUTRIZIONISTA**

Tibaldi E.

*Dipartimento di Scienze Animali - Università di Udine*

E' ben noto che la mangimistica delle specie ittiche allevate e segnatamente di quelle carnivore, ha subito nel tempo importanti evoluzioni promosse da un continuo progresso delle conoscenze sulla nutrizione dei pesci e da avanzamenti tecnologici nel processo di fabbricazione dei mangimi che ha consentito la diffusione di diete complete, ad alta densità di nutrienti ed energia digeribili, molto performanti sul piano zootecnico e rispettose dell'ambiente. Gli anni più recenti stanno tuttavia segnando ulteriori rapidi cambiamenti nella formulazione dei mangimi, con la progressiva riduzione degli impieghi di farine ed oli di pesce, ingredienti un tempo elettivi in quanto nutrizionalmente ideali per i pesci. Recenti proiezioni, allineate ad una tendenza già in atto, indicano infatti che nel 2020 i livelli di farine ed oli di pesce nei mangimi commerciali per le specie ittiche maggiormente allevate nel nostro Paese, subiranno un progressivo declino fino al dimezzamento degli attuali livelli di impiego. In questa direzione, nell'ultimo decennio una notevole mole di studi ha accertato la possibilità di sostituire quote variabili di proteine e lipidi da farine ed oli di pesce con ingredienti di origine vegetale nella dieta dei pesci carnivori. Le ricerche indicano limiti consigliabili di sostituzione molto spesso specie-specifici, in relazione allo stadio di sviluppo ed alle caratteristiche nutrizionali-antinutrizionali degli ingredienti vegetali utilizzati che, una volta superati, oltre a deprimere la performance zootecnica, potrebbero alterare l'integrità morfo-funzionale ed il microbiota del digerente, la risposta adattativa allo stress ed i sistemi di difesa immunitaria degli animali secondo meccanismi fisiologici e molecolari non sempre assimilabili a quelli studiati in altri modelli animali.

In queste circostanze il controllo della qualità delle materie prime di origine vegetale (in particolare dei derivati proteici) per quanto attiene all'apporto e biodisponibilità dei nutrienti, ai livelli di fattori antinutrizionali (ANFs) e micotossine, diviene fondamentale ai fini della selezione di quelle più idonee all'impiego mangimistico. Ciò consente in primo luogo la prevenzione di gravi tossicosi (micotossine) e la gestione del rischio di incorrere nelle classiche patologie da carenza di macro-micronutrienti, attraverso opportune strategie formulistiche ed integrazioni delle diete, correttive dei difetti nutrizionali degli ingredienti alternativi (es. limiti/sproporzioni in aminoacidi essenziali e vitamine, ridotta biodisponibilità di elementi minerali, tipiche delle farine proteiche vegetali, ovvero l'assenza di HUFAn-3 negli oli vegetali). Meno agevole può risultare il controllo degli effetti di alcuni fattori antinutrizionali (ANFs) apportati da derivati proteici vegetali, verso i quali varie specie ittiche mostrano diversa tollerabilità (es. antiproteasi digestive) e che in alcuni casi, anche con effetti sinergici (es. lectine, proteine antigeniche della soia), potrebbero dar luogo ad alterazioni più o meno severe del digerente fino allo sviluppo di sindromi o patologie di cui "l'enterite soia-dipendente" nei Salmonidi è l'esempio più eclatante.

All'integrità morfo-funzionale ed al microbiota del digerente, alla capacità adattativa allo stress ed alle possibili implicazioni di natura immunitaria, queste ultime principalmente connesse all'abbassarsi del rapporto PUFAn-3/n-6 nella dieta, dovrà essere posta sempre maggior attenzione in seguito alla diffusione di mangimi a crescente base vegetale che il futuro preannuncia.

## **PATOLOGIE NUTRIZIONALI EMERGENTI: IL PUNTO DI VISTA DEL PATOLOGO**

Beraldo P.

*Dipartimento di Scienze Animali, Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Udine*

La patologia nutrizionale si occupa tutti i processi morbosi ascrivibili a deficienza (primitiva o secondaria), eccesso o squilibrio degli elementi nutritivi richiesti per la crescita e il mantenimento di tutte le funzioni metaboliche nelle diverse fasi vitali di un animale. In generale, le malattie nutrizionali sono difficili da definire in termini assoluti, in quanto è raro che siano causate da una sola carenza alimentare. Gli stati carenziali, la degenerazione lipoidea, l'ittero da digiuno, la steatosi epatica o viscerale, alcune enteropatie, le anomalie scheletriche, la cataratta e certe neoplasie sono alcuni degli stati morbosi che interessano le specie ittiche allevate e che derivano da errori relativi alla formulazione e somministrazione delle diete artificiali, alla loro mal conservazione o presenza di contaminanti nelle materie prime.

L'evoluzione dell'acquacoltura verso sistemi intensivi industrializzati ha dato un notevole impulso alla ricerca sugli aspetti nutrizionali e alimentari delle diverse specie allevate. Le prospettive economiche di redditività in acquacoltura hanno portato verso un marcato aumento della densità di pesce ottenibile per unità di coltura, tendenza che ha indotto sovente condizioni di allevamento al limite per il benessere animale. Tali condizioni di allevamento aumentano concretamente il rischio di un evento morboso (infettivo o non), ma, soprattutto, ribadiscono come una corretta nutrizione e alimentazione siano fattori critici per promuovere adeguate prestazioni produttive e per garantire il necessario stato di salute.

Partendo dal presupposto che una dieta artificiale commerciale sia teoricamente rispondente a tutte le esigenze nutritive specifiche, di una data specie ittica nelle varie fasi del ciclo produttivo, quali devono essere considerate, attualmente, le criticità riconducibili a eventi patologici con matrice eziologica nutrizionale o alimentare? Sicuramente, il diffuso impiego di fonti proteiche vegetali per la formulazione delle diete commerciali ha aperto un nuovo filone della patologia nutrizionale dei pesci, poiché i fattori antinutrizionali, profili aminoacidici inadeguati e/o la presenza di sostanze marginalmente tossiche possono influenzare negativamente la salute e, quindi, le prestazioni zootecniche del pesce allevato. Conseguentemente, bisognerebbe riconsiderare anche la gestione dell'alimentazione contestualmente a nuovi scenari climatici, economici e tecnologici specifici del settore ittico.

**ABSTRACT  
WORKSHOP  
S.I.P.I.**

**“Benessere e  
Sperimentazione  
animale in acquacoltura”**

## PANORAMICA SUL BENESSERE DEI PESCI

Ghittino C.

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Terni*

In funzione di specie e taglia, le libertà fondamentali riconosciute ai pesci d'allevamento sono cinque:

- 1) devono poter disporre di una dieta completa, somministrata in base alla temperatura dell'acqua;
- 2) la qualità dell'acqua, temperatura, flusso ed ossigenazione devono essere idonei;
- 3) le malattie devono essere prevenute e/o diagnosticate rapidamente e curate;
- 4) devono essere mantenute densità d'allevamento adeguate, che non compromettano le libertà natatorie;
- 5) devono essere ridotti al minimo i fattori che possono causare paura, stress e malattie durante la macellazione, l'uccisione deve essere preceduta da stordimento.

Il pesce reagisce agli stimoli stressanti mediante una risposta primaria, con secrezione dei cosiddetti ormoni dello stress (catecolamine e cortisolo).

A breve termine (stress acuto), questi ormoni inducono una risposta secondaria, con cambiamenti metabolici evidenti sia a livello ematico che tissutale; l'adrenalina, in particolare, ha azione molto rapida e sembra essere fra le prime responsabili dei disturbi che si verificano a carico del sistema osmoregolatorio.

A lungo termine (stress cronico), subentra una risposta terziaria, con alterazioni di crescita, riproduzione ed immunità; l'aumento del cortisolo in circolo, che ha spiccata azione immunodepressiva, è generalmente proporzionale alla durata e severità del processo.

E' possibile che le risposte allo stress acuto possano causare sofferenza, mentre è certo che le risposte allo stress cronico provochino un'alterazione dello stato di benessere dei pesci. Diverse pratiche e condizioni d'allevamento possono causare stress e portare ad una riduzione del benessere nei pesci, fra cui fattori ambientali, densità di stoccaggio, malnutrizione, digiuno, manipolazioni, trattamenti profilattici e terapeutici, trasporto e macellazione. Lo stato di stress e lo stato di mancato e/o ridotto benessere nei pesci durante l'allevamento può essere valutato tramite tutta una serie di indicatori comportamentali e fisiologici.

**BENESSERE E BUONE PRATICHE DI ALLEVAMENTO**

Marino G.

*ISPRA, Roma*

L'Unione Europea ha lanciato nel 2006 il Piano d'azione per il benessere animale e il Settimo Programma Quadro della Ricerca Europa (2008-2013) apre nuove opportunità di ricerca sulla tematica benessere. In acquacoltura il benessere delle specie in allevamento è strettamente legato al modo in cui il processo di produzione è condotto. Per cui le condizioni di benessere degli animali durante il ciclo di produzione sono effettivamente una caratteristica del prodotto stesso ed il livello di benessere contribuisce a determinarne la qualità. Questa sezione del corso affronta la valutazione dello stato di benessere nelle specie ittiche allevate e analizza:

- i) i fattori di rischio con effetto sul benessere in allevamento;
- ii) gli indicatori di benessere e la applicabilità nelle diverse specie e in diverse condizioni d'allevamento;
- iii) la definizione di standard di benessere per le specie oggetto d'acquacoltura nell'ambito di schemi di certificazione volontaria per l'acquacoltura;
- iv) nuovi strumenti per l'elaborazione di un indice integrato di benessere nelle specie oggetto d'acquacoltura.

## **IL TRASPORTO E LA MACELLAZIONE DEI PESCI**

Manfrin A.

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Rovigo*

La sempre maggiore sensibilizzazione dell'opinione pubblica e dei consumatori in merito alle modalità con cui vengono allevati e macellati gli animali, ha fatto sì che anche nel settore dell'acquacoltura gli esperti di welfare abbiano cominciato ad interessarsi dell'argomento. Contrariamente agli animali a sangue caldo però, per quanto riguarda gli organismi acquatici la legislazione europea è ancora abbastanza carente. Il Reg. 1/2005 CE infatti, pur parlando di vertebrati vivi, solo marginalmente dà delle indicazioni riferibili anche alle specie ittiche. Ancor più carente è la normativa che riguarda lo stordimento (stunning) e l'uccisione (killing) degli organismi acquatici. Mentre nel caso del trasporto degli animali alcune considerazioni di carattere generale sono facilmente applicabili anche ai pesci, a causa delle numerose specie ittiche e delle diverse tipologie di allevamento non è sempre facile dare delle indicazioni precise su quali siano i migliori metodi per tutelare il benessere degli animali al momento della macellazione. A tal riguardo esistono solo delle indicazioni dell'Organizzazione Mondiale della Sanità Animale (World Organization for Animal Health – O.I.E.) e dell'European Food Safety Authority (EFSA) che saranno discusse a livello comunitario con l'intento, nei prossimi anni, di legiferare in merito a questo delicato argomento.

## **BENESSERE E QUALITÀ DEI PRODOTTI ITTICI**

Poli B.M.

*Università di Firenze*

Come per gli animali terrestri, gli effetti delle pratiche prima della macellazione (confinamento, affollamento, raccolta) e dei metodi più comunemente usati per stordire/uccidere i pesci, possono creare severe condizioni di stress acuto e forte riduzione della qualità del prodotto finale. Le risposte comportamentali e fisiologiche agli stressors sono indicatori della riduzione del benessere nel pesce e dopo la morte si riflettono in modo più o meno marcato, ma sempre negativo, sui processi biochimici *post mortem* e sulla manifestazione della qualità del prodotto finale. Numerosi indicatori tissutali per valutare il benessere/sofferenza del pesce durante la conservazione rappresentano anche indicatori di qualità, ma nessuno di loro è perfetto, considerato singolarmente. Gli indicatori più affidabili sono parametri fisici, biochimici e sensoriali, quali lo sviluppo del rigor e delle proprietà dielettriche, la caduta del pH, il rapporto ATP/IMP, l'indice di freschezza K e la valutazione sensoriale. La migliore strategia per una valutazione affidabile dello stato di stress del pesce e del suo impatto sulla qualità del prodotto è un approccio multidisciplinare che prenda in considerazione il comportamento animale e i principali processi fisici e biochimici *post mortem* implicati.

**LA SPERIMENTAZIONE SUI PESCI: QUADRO NORMATIVO**

Mutinelli F.

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro (PD)*

Viene presentata la normativa vigente (D.L.vo 116/92 e s.m.i.) in materia di utilizzo di animali a fini sperimentali o ad altri fini scientifici, alla luce dei nuovi orientamenti comunitari: Raccomandazione della Commissione del 18 giugno 2007 relativa a linee guida per la sistemazione e la tutela degli animali impiegati a fini sperimentali o ad altri fini scientifici (2007/526/CE) e del documento di lavoro della Commissione COM (2008) 543/5 Proposal for a Directive of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes, che dovrebbe portare alla stesura della nuova direttiva comunitaria in sostituzione della Direttiva 86/609/CEE. Vengono presi in considerazione gli aspetti generali che regolano la sperimentazione animale in termini di requisiti normativi, strutturali, logistici e documentali, con particolare attenzione al regime in cui si opera, ossia di comunicazione o autorizzazione in funzione della tipologia di esperimento che si vuole realizzare e delle condizioni in cui lo stesso viene realizzato. Ove appropriati, saranno altresì considerati specifici riferimenti alle condizioni di utilizzo di specie ittiche nella sperimentazione animale.

## ESPERIENZE IN ITALIA SULLA SPERIMENTAZIONE NEI PESCI

Marino F.

*Centro di Ittiopatologia Sperimentale della Sicilia, c/o Dip. di Sanità Pubblica Veterinaria, Università degli Studi di Messina, Polo Universitario dell'Annunziata, 98168 Messina*

L'utilizzo di animali a fini sperimentali rimane a tutt'oggi fondamentale per garantire il progresso della scienza, al fine di permettere un miglioramento della salute e del benessere umano e animale, nonché di tutelare maggiormente il patrimonio ambientale. Vi sono validi motivi che giustificano la scelta di differenziare l'uso degli animali a seconda della specie di appartenenza, soprattutto in virtù della loro prossimità genetica con l'essere umano. Benché tale prossimità faccia di alcune specie di primati non umani le uniche adatte a determinati tipi di esperimenti, è pur vero che per altri modelli sperimentali possono essere utilizzati anche i pesci. A dimostrazione di ciò, in Italia nell'ultimo decennio il numero delle specie ittiche utilizzate nella ricerca è notevolmente aumentato. In linea di massima a livello europeo le linee-guida e le disposizioni legislative, laddove esistono, sono molto più tolleranti verso l'uso di pesci rispetto ai mammiferi. Numerose specie di teleostei trovano da tempo l'interesse dei ricercatori, in quanto consolidati modelli animali per lo studio di differenti tematiche. Lo zebrafish rappresenta uno dei modelli animali più importanti per la ricerca biomedica, dopo i primati ed i roditori, e sta, altresì, assumendo un ruolo sempre più predominante in ambito scientifico, non solo nello studio delle tematiche connesse alla biologia dello sviluppo, ma anche nello studio di malattie cardiovascolari, visive, renali, neoplastiche, così come nella ricerca farmaceutica e, recentemente, nella ricerca sulle patologie neurologiche, neurodegenerative e neuromuscolari, e sui meccanismi genetici causa di patologie umane congenite. Il carassio (*Carassius auratus*) è ampiamente utilizzato per studi sulla rigenerazione dei tessuti e sull'ipossia; inoltre rappresenta il migliore modello animale per lo studio dei tumori delle guaine dei nervi periferici (PNSTs). Gli ibridi di *Xiphophorus maculatus* e *X. helleri* sviluppano melanosi in F<sub>1</sub> e melanomi in F<sub>2</sub>. La tilapia (*Oreochromis niloticus*) trova applicazione in molti studi che necessitano del ricorso a specie termofile, in quanto vivono a temperature prossime a quelle dei vertebrati superiori. I killifish, infine, per via della loro vita molto breve, si prestano molto bene per studi sulla senescenza. Le sperimentazioni soggette alla normativa e che necessitano di autorizzazione del Ministero sono tutte quelle che possono comportare sofferenza, dolore o stress eccessivo all'animale utilizzato. Rientrano ad esempio tra queste attività sperimentali l'induzione di malattia, gli studi sul cancro, i test di farmaci e di rimedi profilattici, le prove di tossicità, la produzione di animali transgenici, le amputazioni. Non vanno, quindi, intese come sperimentazioni tutte quelle pratiche attuate quotidianamente negli impianti o nelle fish facilities sperimentali o che, comunque, non comportino dolore e sofferenza quali l'anestesia, i prelievi di sangue, l'eutanasia, le prove di ingrasso con mangimi commerciali licenziati, la stabulazione di pesci, la detenzione di transgenici e le terapie. Per contribuire alla qualità di una sperimentazione ed al benessere degli animali utilizzati, è necessario selezionare modelli sempre più idonei ed in grado di riprodurre le patologie umane, studiandone la genesi e mettendo a punto terapie innovative. Al fine di una corretta stabulazione di questi animali ed affinché, al momento del loro arrivo, possano essere predisposte strutture e procedure di manutenzione più adatte, i ricercatori o gli addetti ai lavori dovrebbero essere ben formati e preparati sulle loro caratteristiche biologiche, fisiologiche e comportamentali. Lo stato di salute dei pesci è legato alle condizioni ambientali e di stabulazione, e gran parte delle malattie sono associate allo stress. È necessario disporre continuamente di acqua di buona qualità, per ridurre lo stress ed il rischio di malattie, e in quantità sufficiente in modo tale da consentire ai pesci di disporre di

spazio adeguato alle necessità di movimento. E' necessario dotare lo Stabilimento Utilizzatore di un sistema per il trattamento delle acque reflue ed eventualmente, ove possibile, il riutilizzo delle stesse, dopo opportuna depurazione, per limitare la diffusione di patogeni o residui pericolosi nell'ambiente. Attualmente il D.L.vo n. 116/1992, che recepisce la Direttiva n. 86/609/CEE, in materia di protezione degli animali utilizzati a fini sperimentali o ad altri fini scientifici, costituisce il principale punto di riferimento legislativo sull'argomento. Dalla sua adozione ad oggi sono stati compiuti considerevoli progressi nelle tecniche sperimentali e sono emersi nuovi dati scientifici sulla capacità degli animali di provare dolore e sofferenza. Inoltre, molte delle norme ivi contenute sono aperte a libera interpretazione e, pertanto, propongono orientamenti invece di tendere all'armonizzazione. Ad esempio, la "vetusta" direttiva, nonché il D.L.vo, non fanno esplicito riferimento né garantiscono la piena applicazione del principio "delle tre R" ("*Replacement, Reduction and Refinement*" - sostituzione, riduzione e perfezionamento), benché esso sia ora accettato come il principio cardine in questo settore. Infatti, è stato possibile ridurre il numero degli animali usati nella sperimentazione utilizzando metodi alternativi e riducendo il livello di sofferenza degli animali impiegati. A tutt'oggi gli esperimenti possono aver luogo soltanto negli stabilimenti utilizzatori autorizzati. Chiunque intende porre in esercizio uno stabilimento utilizzatore deve ottenere la preventiva autorizzazione del Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali. L'autorizzazione è concessa se gli stabilimenti utilizzatori sono dotati di impianti e attrezzature adeguate alle specie animali da utilizzare ed agli esperimenti da effettuare, previo nulla-osta igienico sanitario da parte dell'ASP competente per il territorio. Gli esperimenti devono essere eseguiti, direttamente o sotto la loro diretta responsabilità, da laureati in medicina e chirurgia, medicina veterinaria, biologia, scienze naturali o da persone munite di altro titolo riconosciuto idoneo ed equivalente. Gli esperimenti devono essere effettuati in modo da evitare angoscia e sofferenza o dolore inutili agli animali. Un medico veterinario deve controllare la corretta esecuzione delle procedure di esperimento e al termine decidere se l'animale debba essere mantenuto in vita o soppresso. Chiunque intende effettuare esperimenti deve darne comunicazione al Ministero, indicando la sede dello stabilimento utilizzatore e producendo a corredo la documentazione atta a dimostrare che l'esperimento è necessario per effettuare un progetto di ricerca mirato ad uno dei fini di cui sopra, che siano assicurate le condizioni previste e ne invia copia anche alla Regione, alla Prefettura, al Comune ed alla ASP competenti per il territorio. Per le Università ricorre l'obbligo di inviare copia anche al Responsabile del Servizio Veterinario Centralizzato per la protezione degli animali utilizzati a fini sperimentali. I progetti di ricerca hanno durata massima di tre anni; ove si preveda che tale termine non sia sufficiente, l'interessato un anno prima della scadenza chiede al Ministero l'autorizzazione alla prosecuzione dell'esperimento. Ogni sperimentazione va annotata in un apposito registro, vidimato dal Ministero o dall'UVAC e custodito dal Responsabile dello Stabilimento Utilizzatore. Le prove diagnostiche e medico veterinarie, che prevedono impiego di animali, devono essere eseguite conformemente alle disposizioni del presente decreto, previa comunicazione alla ASP competente per territorio. Concludendo, è auspicabile, a breve termine, una sperimentazione che segua alla lettera la normativa attualmente esistente (soprattutto in relazione all'autorizzazione necessaria del Ministero), che faccia maggior uso di specie ittiche a ridotto sviluppo neurologico rispetto ai vertebrati superiori e che, per lo stesso motivo, adoperi anche molluschi e crostacei, fino alla graduale sostituzione dei modelli animali con i metodi alternativi.

## **CONCLUSIONI AL WORKSHOP SUL BENESSERE E SULLA SPERIMENTAZIONE ANIMALE IN ACQUACOLTURA**

Ghittino C., Di Raimo E.

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Terni*

Nonostante la crescente pressione delle autorità nazionali ed europee a legiferare in materia di benessere dei pesci, il quadro normativo è ancora carente. La creazione di norme richiede un'approfondita comprensione non solo degli aspetti inerenti la biologia delle specie e le implicazioni etiche, ma anche l'individuazione di validi ed economici sistemi di misurazione dello stato di benessere. Il decreto legislativo n. 146/2001 (attuazione della direttiva 98/58/CE) disciplina in maniera generica tutte le specie animali allevate, ma non fornisce indicazioni specifiche in merito alle caratteristiche etologiche ed alle tecniche d'allevamento concernenti i pesci. Il Comitato permanente della Convenzione Europea per la protezione degli animali tenuti per scopi zootecnici presso il Consiglio d'Europa di Strasburgo ha adottato, in data 5 dicembre 2005, la Raccomandazione relativa alla protezione dei pesci negli allevamenti, entrata in vigore il 5 giugno 2006. Tale raccomandazione fornisce elementi generici, ma fondamentali, per assicurare la salute ed il benessere dei pesci allevati e prevede una integrazione con allegati specie-specifici relativi a requisiti di qualità delle acque, densità di stoccaggio, alimentazione, comportamento sociale ed ambientale, strutture d'allevamento. Anche l'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA) ha diramato delle opinioni relative al benessere dei pesci allevati. Nello specifico, il 20 marzo 2009 è stata adottata un'opinione scientifica sugli aspetti di benessere relativi ai sistemi di stordimento ed uccisione in spigole ed orate. A fronte di questo quadro normativo, molti codici e regole volontarie adottate dal comparto acquacoltura fanno riferimento al benessere dei pesci allevati, fra cui il Codice di Buona Pratica d'Allevamento in Acquacoltura e le Linee Guida per la Certificazione di Prodotto in Acquacoltura adottate dall'Associazione Piscicoltori Italiani.

# **ABSTRACT**

# **Comunicazioni orali**

## **REACT RTGE: UN APPROCCIO NUTRIZIONALE AL CONTROLLO DELLA RAINBOW TROUT GASTRO ENTERIC SYNDROME**

Cervellione F., Sarti M., Rogato F., Luzzana U.

*Skretting, Frazione San Zeno, Mozzecane (VR), Italy*

Nella moderna acquacoltura intensiva si comincia a riconoscere con sempre maggiore chiarezza la necessità di adattare l'alimentazione anche allo stato sanitario degli animali. Pur rappresentando solo un tassello di un quadro molto complesso e articolato, l'alimento infatti è un elemento importante tanto ai fini della prevenzione delle patologie quanto per mitigarne gli impatti favorendo il pieno recupero degli animali. Su questa base Skretting ha sviluppato il concetto *Active Nutrition*, che prevede l'utilizzo di prodotti specifici per mettere i pesci nelle condizioni migliori per contrastare l'insorgenza della malattia (*Proactive Nutrition*) o per uscirne più rapidamente possibile (*Specific Nutrition*).

La *Rainbow Trout Gastro Enteric Syndrome* (RTGE) è una patologia della trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*) il cui agente eziologico è *Candidatus arthromitus*, batterio strettamente anaerobio presente nell'intestino dei pesci a temperature superiori ai 14-15°C. L'RTGE si manifesta con una mortalità solitamente non elevata associata ad un forte calo del *feed intake*, con un evidente peggioramento delle *performance* zootecniche.

Un approccio nutrizionale al controllo dell'RTGE deve prevedere diversi elementi, tra i quali la stabilizzazione della microflora del digerente, il sostegno all'equilibrio osmotico e il supporto alla ricostituzione dell'epitelio intestinale danneggiato. Skretting ha sviluppato una formulazione specifica a questo scopo, denominata React RTGE, bilanciandone la composizione in micro- e macronutrienti così da agire a livello dell'ambiente intestinale modificandone le condizioni, riducendo lo stress osmotico e fornendo energia in forma altamente disponibile per gli enterociti, favorendone così il *turn-over* e il recupero funzionale dell'organo.

Il prodotto è stato sviluppato sulla base di una serie di prove e valutazioni *in vitro* e *in vivo*, e validato in prove di campo in diversi Paesi europei. In questo lavoro vengono in particolare presentati i risultati ottenuti in una prova di campo condotta in un allevamento francese nel quale l'RTGE rappresenta un problema rilevante durante la stagione estiva. Due *raceways* paralleli (A, B) sono stati sottoposti per 69 giorni consecutivi durante il periodo estivo (temperatura media 15.7°C) a due diversi trattamenti alimentari: React RTGE (A) e controllo (B). Ogni gruppo era costituito inizialmente da 40.000 soggetti del peso iniziale di 80 grammi. Durante la prova sono stati registrati i dati relativi alla mortalità, al mangime somministrato e allo stato sanitario degli animali.

I risultati estremamente promettenti confermano l'utilità di un approccio nutrizionale nei confronti delle diverse patologie dei pesci, ai fini di promuovere il benessere animale limitando al contempo il ricorso a trattamenti medicati.

## **EFFETTO DELLA DIETA SU PARAMETRI IMMUNOLOGICI, FISIOLOGICI E ZOOTECNICI NELL'ORATA (*SPARUS AURATA*) IN CONDIZIONI INVERNALI**

Cervellione F., Rogato F., Perini F., Agonigi R., Luzzana U.

*Skretting, Frazione San Zeno, Mozzecane (VR), Italy*

La *Winter Syndrome* è una patologia multifattoriale che colpisce l'orata (*Sparus aurata*) durante il periodo invernale: le basse temperature determinano una riduzione dell'assunzione di alimento, causando un'alterazione dell'equilibrio metabolico ed omeostatico del pesce, nonché una depressione del sistema immunitario. Tale quadro patologico è associato a mortalità, insorgenza di patologie secondarie e peggioramento dei parametri zootecnici. Lo sviluppo di protocolli nutrizionali specifici è parte importante di una strategia gestionale complessiva volta a supportare il metabolismo dell'orata nel periodo invernale. Diete specificatamente formulate a questo scopo devono includere macro- e micronutrienti specifici per sostenere il *feed intake*, supportare il sistema immunitario, favorire il metabolismo lipidico nel fegato, l'utilizzazione dell'energia e l'equilibrio osmotico.

Skretting ha sviluppato formulazioni specifiche, testate tanto in condizioni sperimentali di inverno simulato quanto in campo, prevedendo un alimento per la fase di preparazione all'inverno (Protec Winter) e uno per il periodo invernale vero e proprio (React Winter). Le prove sperimentali sono state condotte utilizzando 200 orate del peso medio iniziale di 200 g mantenute in condizioni di temperatura variabile (stadio 1 media 17.3°C, stadio 2 media 13.4°C, stadio 3 media 18.1°C) e sottoposte a due trattamenti alimentari: Protec-React Winter e controllo. I dati di campo si riferiscono ad allevamenti spagnoli che hanno utilizzato il protocollo Protec-React Winter. Sono stati valutati gli effetti su *performance* zootecniche (tasso di accrescimento SGR e fattore di conversione alimentare FCR), parametri immunologici (capacità batteriolitica del siero e capacità emolitica del complemento), istopatologici (fegato, intestino e tessuto muscolare) e fisiologici (lisozima, citrato sintetasi, citocromo-c ossidasi, 6-fosfoglutamato sintetasi, glucosio-6-fosfato deidrogenasi, TBARS epatiche). L'andamento della mortalità è stato anche monitorato per verificare possibili effetti positivi in termini di maggiore resistenza all'insorgere di episodi di *Winter Syndrome*.

I risultati di queste prove hanno confermato anzitutto la natura multifattoriale della *Winter Syndrome*, che non è stato possibile riprodurre sperimentalmente in condizioni di laboratorio. L'utilizzo di diete specifiche per l'alimentazione invernale ha avuto effetti positivi sulle *performance* zootecniche tanto in scala pilota quanto in campo, e ha dimostrato di supportare tanto il sistema immunitario non specifico quanto lo stato fisiologico degli animali.

Si conferma quindi l'importanza dell'alimentazione come parte essenziale di una strategia gestionale complessiva per sostenere l'orata nel difficile periodo invernale e preparare gli animali nelle migliori condizioni per la successiva stagione di crescita.

## EPISODI DI MORTALITÀ DA *BETANODAVIRUS* IN BRANZINI (*DICENTRARCHUS LABRAX*) ALLEVATI IN VASCHE A TERRA IN CONTESTO VALLIVO

Fagioli P.<sup>1</sup>, Grodzki M.<sup>2</sup>, Ciulli S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Veterinario Libero Professionista;* <sup>2</sup>*Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Alma Mater Studiorum*

I *Betanodavirus* sono responsabili nel periodo estivo di episodi di mortalità anche gravi nell'allevamento del branzino (*Dicentrarchus labrax*). Il tropismo del virus determina una sintomatologia neurologica caratteristica riconosciuta e temuta dall'allevatore. Al momento non sono disponibili presidi terapeutici diretti o indiretti cui ricorrere in caso di insorgenza di focolai in seguito ai quali l'allevatore subisce ingenti perdite economiche. Per la specie branzino sono stati riportati focolai con vario grado di mortalità (15%-100%) sia in larve-giovanili che in soggetti di taglia maggiore. I soggetti sopravvissuti sembrerebbero acquisire una protezione immunitaria almeno parzialmente protettiva in caso di un nuovo contatto con il virus. Studi effettuati su focolai naturali hanno però evidenziato che fra i soggetti sopravvissuti la positività al virus può protrarsi per mesi, facendo sì che questi soggetti svolgano il ruolo di portatori nei confronti degli individui recettivi. Questo meccanismo di sopravvivenza/svernamento virale risulta particolarmente importante nel contesto di un allevamento che effettua semine annuali al fine di avere la disponibilità ciclicamente di pesce della taglia commerciale desiderata. La bassa specie specificità virale e la sua elevata resistenza particolarmente alle basse temperature permettono inoltre che esso possa superare il periodo invernale nell'ambiente o anche grazie alla presenza di altre specie ittiche recettive che condividono con il branzino l'ambiente di allevamento.

Scopo del presente lavoro è quello di descrivere la correlazione fra episodi di Nodaviosi nello stesso allevamento osservati in anni successivi al fine di meglio comprenderne l'epidemiologia e di individuare eventuali strategie di controllo che possano contenere i danni durante i focolai.

Il sistema di allevamento oggetto d'indagine prevede vasche in cemento/terra parzialmente coperte. La presenza di un impianto di erogazione di ossigeno liquido garantisce i livelli desiderati di ossigeno disciolto, mentre temperatura e salinità dell'acqua risentono delle condizioni meteorologiche stagionali. In entrambi i casi descritti dopo un periodo di circa 2-3 settimane dall'introduzione di avannotti di 5-6 g di peso sono stati registrati i primi segni di malattia che ha però subito un'evoluzione molto differente nei due anni di semina: sugli esemplari seminati nel 2007 sono stati segnalati livelli di mortalità finale molto elevati, superiori al 60%, mentre sui soggetti seminati nel 2008 la mortalità è stata contenuta attestandosi attorno al 5% con un andamento più dilatato nel tempo. Entrambi gli episodi si sono verificati nel periodo estivo con temperatura media dell'acqua sia nel 2007 che nel 2008 attorno a 25°C. L'analisi di campioni prelevati durante i focolai ha permesso l'isolamento del virus in coltura cellulare e la sua identificazione genetica.

Vari fattori sono stati messi a confronto sia per quanto riguarda la pratica gestionale sia per quanto riguarda le caratteristiche dei virus isolati durante i due anni.

Dal confronto di questi fattori sono stati individuati alcuni parametri (semina primaverile, minor densità, livelli di ossigeno stabili) che sembrano essere più rilevanti ai fini della riduzione delle perdite economiche durante i focolai di Nodaviosi.

## CARATTERIZZAZIONE FILOGENETICA DI CEPPI DI *BETANODAVIRUS* ISOLATI NEL BACINO DEL MEDITERRANEO

Panzarin V.<sup>1</sup>, Fusaro A.<sup>1</sup>, Monne I.<sup>1</sup>, Rampazzo E.<sup>1</sup>, Cappellozza E.<sup>2</sup>, Toffan A.<sup>1</sup>, Bovo G.<sup>2</sup>, Cattoli G.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unità Operativa Ittiovirologia, Dipartimento di Ricerca e Sviluppo (Laboratorio di Virologia); <sup>2</sup>Centro Specialistico Dipartimentale di Ittiopatologia. Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro, Padova

L'encefalo-retinopatia virale (VER) è una patologia neurologica infettiva descritta per la prima volta nel Mediterraneo nel 1995. L'agente eziologico, appartenente alla famiglia *Nodaviridae*, genere *Betanodavirus*, consiste in un virus a simmetria icosaedrica privo di envelope con genoma bi-segmentato a RNA singolo filamento: il segmento 1 (RNA1) codifica la polimerasi virale, mentre il segmento 2 (RNA2) codifica la proteina del capsido. Gli elevati tassi di morbilità e mortalità associati all'infezione, l'ampio spettro d'ospite e la vastissima diffusione geografica, fanno della betanodaviosi una delle più gravi minacce per l'acquacoltura marina, quindi una buona conoscenza delle dinamiche evolutive e diffusive del virus tra le popolazioni ittiche è indispensabile per un efficiente controllo della patologia.

Il presente studio si propone di caratterizzare, dal punto di vista filogenetico, isolati di *betanodavirus* ottenuti da pesci allevati e selvatici campionati nelle acque italiane negli ultimi dieci anni.

I segmenti genici di RNA1 e RNA2 di 60 ceppi rappresentativi, isolati da 16 differenti specie ittiche, sono stati parzialmente sequenziati ed analizzati filogeneticamente mediante metodi Baesiani.

L'analisi filogenetica rileva la presenza di 12 ceppi riassortanti per i genotipi RGNNV/SJNNV presenti esclusivamente nei campioni raccolti da pesci d'allevamento nel biennio che va dal 2004 al 2005. I rimanenti 48 isolati, circolanti in tutto l'areale di campionamento dal 2000 al 2009, sono stati classificati come appartenenti al genotipo RGNNV, distribuendosi all'interno di diversi cluster genetici. L'elevato numero di virus isolati da triglia di fango (*Mullus barbatus*) e la significativa similarità riscontrata con ceppi circolanti negli allevamenti, suggerisce un potenziale ruolo di questa specie ittica nella diffusione della betanodaviosi non solo nell'ambiente selvatico ma anche nelle maricoltura e nelle avannotterie. Nel presente studio sono state descritte 6 nuove specie ittiche dalle quali è stato isolato il genotipo RGNNV, mentre i ceppi riassortanti RGNNV/SJNNV sono stati rinvenuti in 2 nuove specie marine rispetto a quanto riportato precedentemente in letteratura.

In futuro ulteriori studi saranno necessari per meglio comprendere le dinamiche evolutive di *betanodavirus* nelle acque del Mediterraneo.

## RITROVAMENTO DI *BETANODAVIRUS* IN MOLLUSCHI BIVALVI E ANALISI MOLECOLARE DEI CEPPI EVIDENZIATI

Grodzki M.<sup>1</sup>, Bignami G.<sup>2</sup>, Serratore P.<sup>1</sup>, Ciulli S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna; <sup>2</sup>Polo scientifico-didattico di Cesena

I *Betanodavirus* sono piccoli virus ssRNA responsabili della Necrosi Nervosa Virale in specie ittiche marine allevate in tutto il mondo. Sulla base dell'analisi filogenetica possono essere suddivisi in 4 genotipi attualmente riconosciuti come specie virali diverse del genere *Betanodavirus*, famiglia Nodaviridae. Questi virus sono stati segnalati anche in molteplici pesci selvatici generalmente asintomatici. Nel Mediterraneo è prevalentemente diffusa la specie RGNNV sia in pesci allevati che selvatici. Recentemente però sono stati isolati genotipi virali fino ad oggi considerati non presenti in Europa o mai segnalati nel branzino. Al fine, quindi, di individuare precocemente la diffusione di nuove varianti è fondamentale mantenere un continuo monitoraggio genetico dei ceppi presenti negli animali. Ulteriori studi ne hanno investigato la presenza in invertebrati, prevalentemente crostacei evidenziandone una certa diffusione in Korea. In uno di questi studi ne è stata segnalata la presenza anche in due soggetti di mitilo (*Mytilus galloprovincialis*).

In questo studio sono stati esaminati 57 lotti di molluschi bivalvi, prelevati dai punti vendita, di provenienza sia nazionale che estera. Sono state prese in considerazione 3 specie di molluschi, due delle quali vengono allevate sul fondo (*Tapes philippinarum*; *Crassostrea gigas*) ed una in colonna d'acqua (*M. galloprovincialis*). La ricerca di *Betanodavirus* è stata effettuata tramite RT-nested/PCR.

I virus evidenziati sono stati sequenziati e sottoposti ad analisi filogenetica per stabilire se questi animali ospitavano *Betanodavirus* correlati a quelli evidenziati nei pesci.

Solo 1 lotto di mitili su 19 è risultato positivo per *Betanodavirus*, mentre una elevata positività è stata riscontrata in vongole veraci (42%) (*T. philippinarum*) ed ostriche (32%) (*C. gigas*).

Tutti i ceppi virali evidenziati sono risultati appartenere alla specie RGNNV. Sulla base dell'analisi filogenetica i *Betanodavirus* evidenziati nelle vongole veraci sono stati raggruppati insieme ad alcuni virus evidenziati in pesci selvatici ed allevati provenienti dallo stesso areale (Mar Adriatico). I virus evidenziati nelle ostriche, invece, formano un cluster a parte, anche se nell'ambito dello stesso genotipo. Essendo questi molluschi di origine estera (Francia) non è da escludere che possano favorire l'introduzione di nuove varianti virali. Infatti, la reimmersione in mare prima della vendita, atta al finissaggio del prodotto, è consentita presso alcuni stabilimenti di stabulazione.

Questo studio costituisce il primo approfondimento sull'analisi di *Betanodavirus* in molluschi bivalvi ed evidenzia una ampia diffusione del virus particolarmente associata ad alcune specie. L'analisi molecolare ha evidenziato la presenza di virus correlati a quelli responsabili di infezione nei pesci. Questi risultati sottolineano il possibile ruolo dei molluschi bivalvi nella diffusione dei *Betanodavirus*.

**DETECTION OF *PHOTOBACTERIUM DAMSELAE* SUBSP. *PISCICIDA* BY DUPLEX PCR**

Corrarati B., Magnabosco C., Zambon M., Rosteghin M., Manfrin A.

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie; Fish Pathology Dept NRL for Crustacean Disease. Via L. da Vinci, 39 - 45011 Adria (RO) Italy; Tel. +39 0426 21841 Fax + 39 0426 901411*

The two bacteria *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* and *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* are genetically highly similar. Despite this, *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* is more pathogenic, causing a disease called photobacteriosis in fish.

The aim of this work was to develop a molecular diagnostic method for the specific detection of the pathogenic subspecies. At first we focused on the phospholipase gene as a target, as it has been reported to be uniquely present in *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*. We designed two primers pairs, producing amplicons of 196 bp (Php1F and Php1R) and 240 bp (Php2F and Php2R) respectively. We performed the PCR on several strains: including 8 reference strains (6 *P. damsela* subsp. *damsela* and 2 *P. damsela* subsp. *piscicida*) and 33 biochemically identified field isolates (16 *P. damsela* subsp. *damsela* and 17 *P. damsela* subsp. *piscicida*). Amplicons were obtained in all cases demonstrating that the phospholipase gene target region is conserved in the two subspecies. Furthermore sequence analysis of the amplicons from the 8 reference strains revealed a low variability between the two subspecies.

It has previously been shown that the urease gene and its associated activity are only present in the less pathogenic species *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*. In order to develop a sensitive and specific diagnostic protocol it was, therefore, decided to combine the urease and phospholipase gene as targets in a duplex PCR. With this purpose in mind, the Php1 primer pair together with a second pair of primers (UreC F and UreC R) targeting a 448 bp region of the urease gene were used. Two different amplification patterns were observed when the different *Photobacterium damsela* subspecies were tested; one that had both urease and phospholipase amplicons (i.e. for *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*) and the other which had just the phospholipase amplicon (i.e. for *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*).

Present work in our laboratory includes the further sequencing of the phospholipase in order to identify a region of the gene that can be used in the designing of a suitable primer set and probe in order to develop a Real-Time PCR protocol.

**YERSINIA RUCKERI IN STORIONE SIBERIANO (ACIPENSER BAERI):  
DESCRIZIONE DI UN EPISODIO IN UN ALLEVAMENTO NEL NORD ITALIA**

Salogni C.<sup>1</sup>, Cervellione F.<sup>2</sup>, Zanoni M.<sup>1</sup>, Giovannini S.<sup>1</sup>, Alborali G.L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia;

<sup>2</sup>Hendrix SpA, Skretting, Mozzecane, Verona

Nel presente lavoro viene descritto un focolaio d'infezione da *Yersinia ruckeri* in storioni siberiani (*Acipenser baeri*) verificatosi nel mese di maggio del 2009, in una piscicoltura del Nord Italia e caratterizzato di una mortalità giornaliera del 1-3% che si è protratto per circa quindici giorni raggiungendo un valore cumulativo del 30%. L'intera partita di pesci (20.000 soggetti), del peso medio di 40 g, era stata importata in precedenza dall'Est Europa.

La sintomatologia era caratterizzata da apatia, inappetenza, esoftalmo bilaterale di modica entità, melanosi cutanea, emorragie del cavo orale, alla base delle pinne e nella regione perineale. Tutti i pesci pervenuti in laboratorio sono stati sottoposti a esame anatomopatologico, esami standard parassitologici microscopici a fresco, colturali e virologici.

L'esame autoptico ha evidenziato pallore branchiale, versamento siero-emorragico celomatico, congestione e aumento di volume della milza, distensione della vescica natatoria per accumulo di gas ed enterite catarral-emorragica.

L'esame colturale, eseguito su agar sangue e TSA, ha permesso l'isolamento di colonie in purezza da tutti i visceri in tutti i soggetti analizzati (forma setticemica). Le colonie sospette erano caratterizzate da colorazione biancastra e da diametro massimo, dopo 48-72 h d'incubazione, di 3-4 millimetri, con aspetto liscio, piatto, rotondo e con margini netti e senza emolisi. La colorazione di Gram ha evidenziato dei piccoli bacilli Gram negativi.

Gli esami parassitologici (a fresco su impronta e striscio d'organo: cute, branchie ed intestino), e virologici (infezione su coltura cellulare BF-2 ed EPC) hanno dato esito negativo.

La tipizzazione del germe isolato come *Yersinia ruckeri* è stata eseguita tramite caratterizzazione biochimica (macrometodo, sistema miniaturizzato API20E), genomica e sierologica.

La caratterizzazione biochimica ha consentito l'identificazione del microrganismo isolato come immobile e non idrolizzante il tween 80. L'indagine genetica, tramite il sequenziamento del 16sRNA, ha confermato un'omologia genetica del 100% (database Microseq, gene bank BLAST) con *Yersinia ruckeri*. L'esame sierologico, che ha previsto l'utilizzo di diversi sieri (Bionor Mono Yr, Microtek International L.td rabbit anti-*Yersinia ruckeri* serotype I & II) in test di agglutinazione rapida su vetrino, ha permesso la tipizzazione del ceppo come appartenente alla Sierotipo Hagermann I.

Il trattamento terapeutico intrapreso con mangime antibiotato con ossitetraciclina, sulla base della sensibilità saggiata con metodica Kirby-Bauer, ha determinato la forte riduzione della mortalità e la scomparsa della sintomatologia.

Il presente lavoro rappresenta la prima segnalazione sul territorio nazionale, e una delle poche a livello mondiale, dell'infezione e del ruolo patogeno di *Yersinia ruckeri* nello storione siberiano.

## PARAMETRI IMMUNITARI NELLA VALUTAZIONE DEL PROCESSO ONTOGENETICO DEL TIMO DI SPIGOLA (*DICENTRARCHUS LABRAX*) E LORO MODULAZIONE NELLA RISPOSTA VACCINALE

Tiscar P.G.<sup>1</sup>, Mosca F.<sup>1</sup>, Malatesta D.<sup>1</sup>, Ceccarelli G.<sup>2</sup>, Brunetti A.<sup>2</sup>, Galeotti M.<sup>3</sup>, Volpatti D.<sup>3</sup>, Bulfon C.<sup>3</sup>, Abelli L.<sup>4</sup>, Bertoni F.<sup>4</sup>, Romano N.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Università di Teramo; <sup>2</sup>Università della Tuscia; <sup>3</sup>Università di Udine; <sup>4</sup>Università di Ferrara

Il timo costituisce un organo linfoide primario di vitale importanza nello sviluppo del sistema immunitario adattativo dei pesci teleostei ed i fenomeni apoptotici rappresentano un elemento chiave nella maturazione timica dei linfociti T attraverso i processi di selezione negativa. In tale contesto, le Heat Shock Proteins (HSPs) svolgono importanti funzioni anti-apoptotiche, finalizzate al mantenimento dell'integrità cellulare. Pertanto, il delicato equilibrio che si instaura tra i due meccanismi costituisce un fattore indispensabile nella maturazione e nel funzionamento del sistema immunitario. Le HSPs intracellulari rivestono inoltre importanti funzioni adiuvanti nelle fasi di processazione e presentazione antigenica, comportandosi in aggiunta da mediatori extracellulari. In termini morfo-funzionali, le cellule fagocitarie presenti nel timo svolgono un importante ruolo nei confronti dei linfociti T in qualità di Antigen Presenting Cells (APC). Tuttavia la loro identificazione fenotipica nel timo di spigola è ancora impedita dalla mancanza di idonei marcatori, come ad esempio quelli specifici per il recettore del complemento (CR) e per la frazione FC degli anticorpi (FcR). Il presente studio ha lo scopo di evidenziare eventuali interazioni tra apoptosi e HSP a 70 kDa nel timo di spigole da 50 a 290 giorni post-schiusa (dph), sia in condizioni fisiologiche che in seguito a vaccinazione. Parallelamente si è proceduto a valutare l'espressione di CR1 (CD35) e FcR (CD16). Il vaccino AquaVac Vibrio Vab (*Vibrio anguillarum* ser. I-II, Shering Plough) è stato somministrato per bagno a 95 dph e a 165 dph come richiamo. A 230 dph un sottogruppo di spigole vaccinate è stato sottoposto ad un secondo richiamo per via intraperitoneale (i.p.). Il gruppo controllo è stato campionato a 50, 60, 70, 95, 165, 230 e 290 dph mentre i soggetti vaccinati a 165, 230 e 290 dph. Differenti metodologie immunologiche (immunoistochimica, blotting, ELISA) sono state impiegate nello studio qualitativo e quantitativo delle HSP70 e dell'apoptosi (TUNEL, caspasi-3 attiva) e nella rilevazione di cellule CD35 e CD16 positive. Nei soggetti controllo, le HSP70 ed i parametri apoptotici mostravano un incremento progressivo dai 50 ai 70 dph, soprattutto al bordo cortico-midollare, mantenendosi su livelli simili fino ai 290 dph. Cellule CD35+ e CD16+, morfologicamente riconducibili a APC, erano evidenziate a partire da 50 dph nella zona midollare, mentre cellule CD35+, morfologicamente simili a eosinofili, erano anche evidenziate nelle trabecole. La vaccinazione induceva l'espressione di HSP70 a 220 dph mentre a 290 dph i livelli rimanevano significativamente più alti, rispetto al controllo, esclusivamente nei soggetti sottoposti al secondo richiamo i.p. Al contrario, la vaccinazione non è sembrata modulare l'apoptosi, così come la presenza di cellule CD35+ e CD16+.

I principali risultati dello studio evidenziano quindi il ruolo delle HSP70 sia nei processi di maturazione timica che nella risposta vaccinale, mentre l'apoptosi sembrerebbe rivestire un ruolo fondamentale nella maturazione del timo piuttosto che nei processi di immunizzazione. Ulteriori studi avranno lo scopo di meglio definire il ruolo e la localizzazione cellulare delle HSP70 nel timo oltre che la funzione di cellule riconducibili a APC nel timo della spigola e in altri teleostei, in condizioni fisiologiche e in seguito a trattamenti vaccinali.

## **VALUTAZIONE DELL'EVENTUALE PRESENZA DI RESIDUI DI FARMACI NEI TESSUTI EDIBILI DI TROTA IRIDEA (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) LUNGO TUTTA LA FILIERA PRODUTTIVA**

Di Salvo A., della Rocca G., Malvisi J.

*Dipartimento di Patologia, Diagnostica e Clinica Veterinaria – Università degli Studi di Perugia*

Fra le varie problematiche affrontate per l'ottenimento di prodotti alimentari che garantiscano la tutela della salute del consumatore grande rilevanza hanno avuto anche l'individuazione, la caratterizzazione e la gestione del rischio tossicologico derivante dall'eventuale presenza di residui di farmaci utilizzati nella terapia veterinaria nelle derrate di origine animale.

In questa ottica si inserisce la necessità di creare filiere d'acquacoltura che garantiscano al consumatore una produzione di pesce allevato di elevato standard, sia da un punto di vista qualitativo che di sanità.

Nell'ambito dell'individuazione di tutti gli aspetti che siano garanti del processo produttivo del pesce allevato, lo scopo di questa ricerca è stato quello di valutare l'eventuale presenza di residui degli agenti terapeutici autorizzati in acquicoltura (amoxicillina, ossitetraciclina, flumechina, sulfadiazina e trimetoprim) nei tessuti edibili della trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*) lungo tutta la filiera produttiva, cioè nel corso della fase di ingrasso e al momento della commercializzazione. L'indagine è stata effettuata presso l'allevamento "Le GRU", situata a Camino al Tagliamento (Udine), in quanto rappresentativo degli impianti di trocicoltura attivi in Friuli Venezia Giulia e in Italia. I prelievi sono stati effettuati durante tutto il periodo da ottobre 2007 ad ottobre 2008, pertanto durante tutta la fase di ingrasso fino alla macellazione. Allo scopo sono state messe a punto metodiche analitiche in grado di garantire l'individuazione di eventuali quote residuali delle diverse molecole indagate fino a valori (Limiti di Quantificazione – LOQ – della metodica analitica) pari almeno alla metà del Limite Massimo Residuale (MRL) consentito dal Reg. UE n. 37/2010 per ciascuna molecola antibatterica considerata.

Tali metodiche hanno dimostrato di avere le seguenti caratteristiche: valore del coefficiente di regressione sempre molto vicino ad 1, percentuale di variazione inter-day sempre inferiore al 15% e percentuale di accuratezza sempre compresa tra 90 e 120%, parametri che attestano la validità, in termini di sensibilità, riproducibilità ed affidabilità, delle procedure analitiche adottate nella nostra ricerca per la valutazione della presenza o meno di antibiotici nella filiera della trota.

Tutti i campioni processati sono risultati avere concentrazioni inferiori al LOQ della metodica analitica utilizzata per ciascuna delle molecole indagate, il che consente di affermare la salubrità delle derrate ittiche destinate al consumo umano.

L'indesiderata presenza di residui farmacologici nei tessuti edibili di animali è documentata non solo a seguito di trattamenti terapeutici, ma anche per fenomeni di "cross contamination" dei mangimi per un effetto di trascinarsi o di una contaminazione ambientale da farmaci per precedenti terapie effettuate in allevamento. Il riscontro di negatività di quote residuali lungo tutta la filiera produttiva delle trote in allevamento accertata nel corso di questa ricerca ci permette di affermare la correttezza nella gestione dell'allevamento relativamente ai trattamenti farmacologici.

## AGGIORNAMENTO SULL'INFEZIONE DA *AEROMONAS COMPLEX SOBRIA* NELLA SPIGOLA

Anzalone L.<sup>1</sup>, Cari R.<sup>1</sup>, Masini L.<sup>1</sup>, Potenziani S.<sup>1</sup>, Rogato F.<sup>2</sup>, Latini M.<sup>1</sup>, Ottaviani D.<sup>1</sup>, Ghittino C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria-Marche, Via Salvemini 1, 06126 Perugia;  
<sup>2</sup>Hendrix SpA, San Zeno, 37060 Mozzecane (VR)

Negli ultimi anni, sono stati riportati focolai di infezione da *Aeromonas sobria* nella spigola d'allevamento in Italia; tali segnalazioni si riferivano a casi sporadici apparsi in impianti di maricoltura riforniti da acqua con bassa salinità.

Il presente lavoro vuole descrivere una epizoozia legata a questo germe, verificatasi a fine 2009 - inizio 2010 in allevamenti nazionali ove vigevano condizioni ambientali diverse, sia per ciò che concerne la salinità che la temperatura. Le perdite, di tipo continuo ed a stillicidio, sono risultate consistenti in seguito alle difficoltà di controllo con mangimi medicati.

Le spigole colpite, di dimensioni comprese tra i 100 ed i 500 g, presentavano segni di diatesi emorragica, con vistosi spandimenti a carico della cute e petecchie a livello viscerale. Sui fegati era spesso presente teleangectasia, le milze erano notevolmente aumentate di volume e l'ultimo tratto intestinale emorragico.

L'esame colturale è stato condotto tramite prelievo dal rene anteriore, semina su marine agar e agar sangue ed incubazione a 22°C per 24-48 ore; i ceppi isolati sono stati sottoposti a prove di crescita su terreni selettivi ed a test identificativi biochimici e biomolecolari, oltre che a test di suscettibilità agli antibiotici.

Utilizzando lo schema biochimico di Abbott, in base ad alcune reazioni specifiche (idrolisi dell'esculina, fermentazione dell'L-arabinosio, Voges-proskauer, produzione di gas dal glucosio), è stato possibile classificare i ceppi isolati come appartenenti al complex *sobria* ed identificarli fenotipicamente come *Aeromonas jandaei* ed *Aeromonas schubertii*. In alcuni casi, congiuntamente a tali germi, è stato isolato anche *Vibrio anguillarum*.

La ricerca dei geni per le enterotossine ACT, ALT, AST è stata effettuata mediante PCR ed i ceppi testati sono risultati positivi per l'enterotossina ACT.

Gli isolati di *Aeromonas complex sobria* hanno manifestato in vitro una certa resistenza nei confronti dei comuni antibiotici impiegati in acquacoltura, a differenza dei ceppi di *V. anguillarum*. Ciò spiegherebbe le difficoltà di controllo terapeutico verificatesi in campo.

Riscontro di una certa rilevanza è dato dal fatto che l'epizoozia da *Aeromonas complex sobria* è stata in grado di colpire spigole allevate sia in ambienti con bassa (15-20‰) che alta salinità (35‰), sia a basse (12°C) che ad alte temperature dell'acqua (22°C). La sovrapposizione dell'infezione ed il sinergismo d'azione con *V. anguillarum* potrebbe essere all'origine delle perdite consistenti lamentate dagli allevatori.

**SEGNALAZIONE DI CASI DI INFEZIONE DA *YERSINIA RUCKERI* BIOTIPO 2 IN ITALIA**

Anzalone L., Ghittino C.

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria-Marche, Via Salvemini 1, 06126 Perugia*

La Bocca Rossa o Yersiniosi è una fra le principali infezioni setticemiche che colpiscono la trota iridea, diffusasi in Italia a partire dal 1983. E' classicamente sostenuta da *Yersinia ruckeri* biotipo 1, vale a dire da ceppi mobili di questa enterobatteria.

Grazie alle campagne di profilassi vaccinale che sono state condotte nell'ultimo decennio, la prevalenza della malattia nelle trotecolture è notevolmente diminuita. Il vaccino commerciale registrato nel nostro Paese, rappresentato da un batterin monovalente contro il sierotipo 1 di *Y. ruckeri*, se somministrato per immersione a trotelle di 5 grammi, fornisce infatti una valida protezione per 8-10 mesi nei confronti dell'infezione naturale, scongiurando il ricorso all'impiego massiccio di antibiotici da parte degli allevatori.

Di recente, in vari Paesi europei, sono stati registrati focolai di Bocca Rossa nei pesci vaccinati; tale fenomeno è risultato legato al coinvolgimento di ceppi di *Y. ruckeri* biotipo 2, che si caratterizzano per essere immobili.

Scopo della presente indagine è stato quindi quello di verificare se questo biotipo fosse o meno presente negli allevamenti italiani, visto che rari casi di Bocca Rossa sono stati osservati in trote immunizzate con vaccini commerciali.

L'isolamento è avvenuto a partire dal rene anteriore dei pesci, con semina su agar sangue ed incubazione a 22°C per 24-48 ore; le colonie sono state sottoposte ai routinari test colturali e biochimici, oltre che a test di agglutinazione rapida impiegando antisieri monoclonali specifici.

Fra la maggioranza di ceppi mobili, alcuni isolati, provenienti da diverse aree geografiche dell'Italia Centrale, sono risultati immobili, negativi per idrolisi del Tween-80 e sono stati inquadrati all'interno del biotipo 2 di *Y. ruckeri*.

Il riscontro è di interesse per impostare corrette strategie vaccinali, considerando il fatto che negli allevamenti ove sia presente il biotipo 2 di *Y. ruckeri* è consigliabile abbinare un vaccino stabulogeno al vaccino commerciale.

## APPROCCIO DIAGNOSTICO AD UN CASO DI MICOBATTERIOSI IN IBRIDI DI PERSICO SPIGOLA

Agnetti F.<sup>1</sup>, Biagetti M.<sup>1</sup>, D'Avino N.<sup>1</sup>, Manuali E.<sup>1</sup>, Mazzone P.<sup>1</sup>, Sola D.<sup>1</sup>, Pacciarini M.L.<sup>2</sup>, De Montis A.<sup>3</sup>, Ghittino C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Perugia; <sup>2</sup>Centro di Referenza Nazionale per la Tuberculosis da *M. bovis* - Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia; <sup>3</sup>BCS BIOTECH, Cagliari

Le micobatteriosi si riscontrano in numerose specie ittiche, sia d'allevamento (ornamentali e da consumo) che selvatiche, d'acqua dolce o salata. I micobatteri più frequentemente isolati sono *Mycobacterium marinum*, *M. fortuitum* e *M. chelonae*, sebbene siano segnalati anche *M. gordonae*, *M. scrofulaceum*, *M. simiae*, *M. terrae*, *M. peregrinum* e *M. poriferae*. Tra le specie ittiche allevate a scopo alimentare, la malattia è stata descritta in: branzino (*Dicentrarchus labrax*), striped bass (*Morone saxatilis*), yellowtail (*Seriola quinqueradiata*), salmoni del Pacifico (*Oncorhynchus* spp.) e salmone atlantico (*Salmo salar*). Nel presente lavoro viene descritto l'iter diagnostico in un caso di micobatteriosi in ibridi di persico spigola allevati in Italia. L'anamnesi riferiva mortalità a stilloidismo già da alcuni mesi, non preceduta da sintomatologia conclamata, se non, in alcuni casi, da dimagrimento e rare aree di ulcerazione cutanea. Sono pervenuti in laboratorio esemplari di lunghezza compresa tra i 10 e i 15 cm, che sono stati sottoposti ad esame anatomopatologico, microscopico a fresco, parassitologico, batteriologico (standard e specifico per acido-resistenti), micologico, virologico ed istologico. Le colonie sviluppatesi su terreni per micobatteri, sono state successivamente caratterizzate mediante PCR, che ha dato esito positivo per *Mycobacterium* spp. La successiva tipizzazione molecolare è stata condotta sia tramite ibridazione su chip sia tramite sequenziamento del 16S rRNA. Il chip, ha come scopo quello di consentire la rapida caratterizzazione molecolare (3,5 h di tempo dalla PCR al risultato) di isolati colturali di *Mycobacterium*, arrivandone a definire l'appartenenza al *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) oppure ai *Mycobacterium other than Tuberculosis* (MOTT). Nell'ambito dei MOTT inoltre identifica, mediante sonde specie-specifiche, alcuni tra i principali patogeni in campo umano e veterinario, ovvero *M. avium* complex, *M. intracellulare*, *M. fortuitum* complex, *M. marinum*, *M. smegmatis*, *M. scrofulaceum* e *M. xenopi*. Nel caso descritto, all'apertura della cavità celomatica, si è evidenziata, in tutti i soggetti, la presenza di noduli bianco-grigiastri, di aspetto e consistenza lardacea, delle dimensioni da 1 a 3 mm, disseminati principalmente in sede splenica. L'esame microscopico allestito da impronte di milza colorate con Ziehl-Neelsen ha mostrato presenza di numerosi bacilli alcool-acido resistenti. Gli esami parassitologico, micologico, virologico e batteriologico standard hanno dato esito negativo. L'esame colturale per la ricerca di micobatteri, allestito su terreni solidi specifici (Lowenstein-Jensen e Stonebrink), ha permesso l'isolamento di colonie fotocromogene, giallo-arancioni, dopo circa 20 giorni di incubazione a 22°C. L'esame istologico effettuato su campioni di milza, fegato e rene ha evidenziato la presenza di granulomi diffusi ben capsulati, costituiti da necrosi centrale, circoscritta da proliferazione di macrofagi epitelioidi. I risultati ottenuti dal chip hanno evidenziato positività per *M. marinum*, confermata dalla sequenza. Quanto descritto permette di: a) - ribadire la recettività dello striped bass a *Mycobacterium* spp.; b) - evidenziare l'importanza del chip come strumento diagnostico rapido ed efficace per la diagnosi di micobatteriosi; c) - formulare la possibilità di impiego del chip nella tipizzazione degli isolati alcool-acido resistenti da matrici ittiche non solo per consumo ma anche ornamentali.

## OSSERVAZIONI PRELIMINARI SUGLI ASPETTI SANITARI DELLE PRIME FASI D'ALLEVAMENTO DEL TONNO ROSSO (*THUNNUS THYNNUS*) IN ITALIA

Gustinelli A.<sup>1</sup>, Campana M.<sup>2</sup>, Fioravanti M.L.<sup>1</sup>, Florio D.<sup>1</sup>, Caffara M.<sup>1</sup>, Quaglio F.<sup>3</sup>, Caggiano M.<sup>2</sup>, De Metrio G.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dip. Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Università di Bologna; <sup>2</sup>Panittica Pugliese SPA, Torre Canne (BR); <sup>3</sup>Dip. Sanità Pubblica, Patologia Comparata ed Igiene Veterinaria, Università di Padova; <sup>4</sup>Dip. Sanità e Benessere degli Animali, Università di Bari

Il tonno rosso (*Thunnus thynnus*) rappresenta da lungo tempo una delle specie ittiche del Mediterraneo di maggiore interesse dal punto di vista economico e commerciale. Ciò ha determinato un'eccessiva pressione di pesca nei suoi confronti, con conseguente depauperamento degli stock e crescente interesse verso la riproduzione in cattività a fini produttivi. Nell'ambito di un progetto di ricerca strategico volto alla messa a punto delle prime fasi del ciclo di allevamento del tonno rosso in Italia, nel biennio 2008-09 si è proceduto alla produzione indotta di uova da parte di riproduttori stabulati in gabbia presso l'impianto Mare Nostro (Vibo Marina, Calabria) e alla loro schiusa nell'impianto a terra di Panittica Pugliese (Torre Canne di Fasano, Brindisi). Nel secondo anno la schiusa ha mostrato valori prossimi al 98%. L'allevamento larvale si è mostrato particolarmente difficoltoso per diversi motivi: le larve tendono ad affondare rendendo problematica la realizzazione di una corretta idrologia delle vasche e di conseguenza scarsa insufflazione della vescica natatoria. Proseguendo nell'allevamento, il regime alimentare sperimentale e gli evidenti fenomeni di cannibalismo sono stati ulteriore motivo di mortalità. Nel corso del secondo ciclo di produzione i pesci deceduti sono stati in parte congelati ed in parte fissati in formalina tamponata al 10% per accertamenti diagnostici. Su tutti i soggetti congelati è stata effettuata la ricerca di *Betanodavirus* mediante RT-PCR. Sugli ultimi soggetti deceduti sono state condotte anche analisi di carattere parassitologico e batteriologico. Gli esami parassitologici e la ricerca di *Betanodavirus* sono sempre risultati negativi. L'esame microscopico a fresco e previa colorazione con fucsina di strisci cutanei e branchiali condotti dai soggetti appena deceduti ha evidenziato la presenza di batteri filamentosi riferibili a Flavobacteriaceae, mentre l'esame colturale per batteri ha portato all'isolamento di *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* da rene e muscolo, e di *Vibrio* spp. dal cervello di un soggetto. L'esame istologico ha evidenziato la frequente presenza di quadri ascrivibili a setticemia batterica in branchie, cute, muscolo ed organi interni. A livello branchiale si sono osservati grave iperplasia, sfaldamento dell'epitelio, necrosi e telangectasie in presenza di polimicrobismo con abbondanti batteri filamentosi. A livello cutaneo si osservava sfaldamento epiteliale e presenza di ulcere che in alcuni casi raggiungevano il derma ed il muscolo sottostante con massiva colonizzazione da parte di batteri filamentosi. Le fibre muscolari presentavano gravi quadri di degenerazione ialina. Nell'apparato gastroenterico si rilevavano alterazioni patologiche riferibili a gastroenterite a possibile eziologia batterica. A livello epatico si evidenziavano steatosi, emorragie e necrosi mentre nel rene si osservava nefrite tubulare con presenza di batteri nel lume e nel tessuto ematopoietico, dove erano inoltre presenti emorragie. Il tessuto cerebrale mostrava edema diffuso, con presenza di batteri, congestione dei vasi cerebrali e meningei. I risultati preliminari di questa indagine sembrano indicare come nelle prime fasi di allevamento del tonno rosso le problematiche sanitarie di maggiore impatto possano essere riferite principalmente all'insorgenza di malattie batteriche condizionate quali quelle sostenute da *P. damsela* subsp. *damsela*, *Vibrio* spp. e da Flavobacteriaceae.

POR Puglia 2000-2006 - Progetto PS\_085 "Organizzazione di un sistema integrale di allevamento del tonno rosso nel Golfo di Taranto" - ALLOTUNA

**DIFFUSIONE DELL'OPISTORCHIASI NELLA TINCA IN UMBRIA**

Di Raimo E.<sup>1</sup>, Gustinelli A.<sup>2</sup>, Crotti S.<sup>1</sup>, Lo Vaglio G.<sup>3</sup>, Serva D.<sup>4</sup>, Marchetti T.<sup>4</sup>, Fioravanti M.L.<sup>2</sup>, Ghittino C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria-Marche, Via Salvemini 1, 06126 Perugia;*

<sup>2</sup>*Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Università di Bologna, Via Tolara di Sopra 50, 40064 Ozzano Emilia (BO);* <sup>3</sup>*Servizio Veterinario I.A.O.A. ASL2 Umbria, Via Guerra 21, 06127 Perugia;* <sup>4</sup>*Servizio Veterinario I.A.O.A. ASL4 Umbria, Via Bramante 37, 05100 Terni*

L'Opistorchiasi è una zoonosi alimentare sostenuta da trematodi digenei opistorchidi, nel cui ciclo biologico entrano in gioco diversi carnivori selvatici e domestici (ospiti definitivi) ed alcuni gasteropodi e pesci dulciacquicoli (rispettivamente primi e secondi ospiti intermedi). I carnivori, così come l'uomo, sono colpiti dai parassiti adulti, che si localizzano a livello dei dotti biliari, i pesci dagli stadi larvali (metacercarie), che si incistano nella muscolatura. Gli ospiti definitivi, cani e gatti in primis, contraggono la malattia nutrendosi di pesci parassitati e manifestano fenomeni di colangite e fibrosi epatica. L'Opistorchiasi nei pesci decorre, invece, in forma asintomatica e non sembra incidere sul loro stato di salute, né tantomeno sembra indurre una significativa riduzione del benessere.

L'uomo contrae la parassitosi esclusivamente mangiando pesce crudo, abitudine che da un punto di vista igienico-sanitario andrebbe sempre evitata. Malgrado questo principio, nell'ultimo decennio, si sono verificati casi umani di Opistorchiasi in Italia Centrale legati al consumo di pesce lacustre marinato, quindi non cotto.

Al fine di stabilire la diffusione della parassitosi nella fauna ittica in Umbria, è stato svolto un monitoraggio presso i principali bacini idrici regionali ove esiste un'attività di pesca professionale, vale a dire Lago Trasimeno (Perugia), Lago di Piediluco (Terni) e Lago di Corbara (Terni). I pesci, prevalentemente ciprinidi, sono stati analizzati ricorrendo a due tecniche di preparazione del campione: la compressione e la digestione cloropeptica di porzioni di muscolo laterale. L'identificazione dei parassiti è poi avvenuta su base morfologica, mediante osservazione microscopica.

I risultati indicano una positività per presenza di metacercarie ascrivibili al genere *Opisthorchis* nell'8,2% delle tinche provenienti dai Laghi Trasimeno e di Piediluco. Le tinche originarie del Lago di Corbara (bacino artificiale lungo il corso del Tevere) sono invece risultate negative, così come lo sono state le altre specie di ciprinidi analizzate (carpa, scardola, cavedano, carassio).

I nostri dati mettono in evidenza due fatti:

a) come la tinca, rispetto agli altri ciprinidi, sia estremamente recettiva all'Opistorchiasi e rappresenti quindi la specie più indicata per monitorarne la diffusione nel nostro Paese; ciò unitamente alla copro-vigilanza sui gatti che frequentano gli ambienti rivieraschi, veri serbatoi primari della parassitosi;

b) come la prevalenza dell'Opistorchiasi sia bassa nei bacini lacustri umbri, se paragonata a quella dei laghi laziali; ciò è probabilmente dovuto alle differenze ecologiche esistenti fra i laghi umbri (di origine alluvionale) e quelli laziali (di origine vulcanica), nei quali ultimi il ciclo biologico della parassitosi risulterebbe favorito.

**PARASITES OF WILD EUROPEAN SEA BASS *DICENTRARCHUS LABRAX* (LINNAEUS, 1758) FROM ST. GILLA LAGOON (SARDINIA, SOUTH WESTERN MEDITERRANEAN)**

Culurgioni J., De Murtas R., Figus V.

*Dip. di Biologia Animale ed Ecologia - Università di Cagliari – via T. Fiorelli 1, Cagliari*

A preliminary parasitological study was carried out on 25 wild European sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) (Perciformes: Moronidae) from St. Gilla lagoon (Sardinia, South Western Mediterranean).

Aim of the study was to describe and characterize the parasitic community of this stock, with particular attention to the potential zoonotic agents.

The fish, collected between February and April 2010, were transported to the laboratory, measured and weighed. Dissections were performed according to standard parasitological techniques. All the parasites were removed, identified by morphological criteria, preserved in 70% or 90% ethanol or AFA and counted. Parasite prevalence (P%) and its 95% confidence intervals, intensity (I), mean intensity (MI), and abundance (A) were calculated.

Seventeen parasite taxa were recorded, 12 of which identified to the species level. The metazoan detected were: the copepods *Lernanthropus kroyeri* and *Caligus minimus*; the monogenean *Diplectanum aequans*; the digeneans *Bucephalus labracis*, *B. baeri*, *B. minimus*, *Timoniella imbutiforme* (adult and metacercaria), *T. praeterita*, *Cainocreadium labracis*, *Monascus* sp., *Galactosomum timondavidi* (metacercaria); the nematodes *Contracaecum rudolphii* larvae and *Philometra* sp.; Cestoda Tetraphyllidae larvae; the Acanthocephala *Acanthocephaloides propinquus* and a larval unidentified species. The only protozoan parasite detected was *Henneguya* sp., infecting the *bulbus arteriosus* of the 12.0% of fish examined. This is the first report of this myxosporean parasite in wild European sea bass.

The dominant species was the pathogenic gill monogenean *D. aequans* (P = 96.0%), followed by the potentially zoonotic anisakid *C. rudolphii* (P = 92.0%), which also showed the highest intensity with up to 327 worms per host (MI = 71.5). It should be considered the conspicuous occurrence in the gills of another harmful species, the copepod *L. kroyeri*, with prevalence of 76.0%.

The genus *Monascus* and the species *G. timondavidi* are reported for the first time in *D. labrax*. In fact, the only *Monascus* species known in Mediterranean, *M. filiformis*, is a rather specific parasite for *Trachurus* spp., and *G. timondavidi* is known to use *Diplodus* spp. as usual second intermediate host. These findings are likely ascribable to the well-known diversified diet habits of the sea bass. *T. imbutiforme* metacercaria is also a new report in this fish, but it is usually found encysted in Atherinidae, Gobiidae and Soleidae. This reason, and their extremely low values of prevalence and intensity, suggest the accidental/occasional character of these infections.

Acknowledgements: research supported by MIUR-PRIN 2008.

## **LERNAEOLOPHUS SULTANUS IN SPECIE ITTICHE MEDITERRANEE DI INTERESSE COMMERCIALE: LOCALIZZAZIONE E DANNO TISSUTALE INDOTTO**

Bonfiglio R.\*, Manganaro M., Gaglio G., Macrì B., Lanteri G., Marino F.

*\*Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia Marina, Università degli Studi di Messina; Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria, Università degli Studi di Messina*

*Lernaeolophus sultanus* (Milne Edwards, 1840) è un copepode parassita dei teleostei marini selvatici. La sua presenza è segnalata negli Oceani Atlantico, Pacifico e Indiano, nonché nel Mare Mediterraneo. Questo parassita appartiene alla famiglia dei Pennellidi ed è caratterizzato da tipiche localizzazioni nell'ospite. Le sedi elettive interessate dalla presenza del parassita sono cavità buccale (soprattutto palato), narici e occhio. Scopo del presente lavoro è quello di segnalare la presenza di *L. sultanus* anche in sedi inusuali e valutare il danno indotto in specie ittiche di particolare interesse commerciale. Nel corso di campagne di pesca nel Tirreno meridionale, sono stati prelevati 918 triglie di fango (*Mullus barbatus*), 823 pagelli bastardo (*Pagellus acarne*), 26 gallinelle (*Trigla lyra*), 20 spigole (*Dicentrarchus labrax*). Eventuali parassiti esterni isolati sono stati fissati in alcool 70%, osservati ed identificati con l'ausilio dello stereomicroscopio. Alcune porzioni interessate dall'ancoraggio dei parassiti sono state fissate in formalina al 10% e processate con le usuali tecniche istologiche per la valutazione del danno eventualmente indotto. 3/918 (0,3%) triglie, 6/823 (0,7%) pagelli, 1/26 (3,8%) gallinelle, 1/20 (5%) spigole sono risultati positivi alla presenza di copepodi parassiti. I parassiti di dimensioni 1,5-2 cm si presentavano infissi nei tessuti attraverso lunghi processi cefalici, mentre la porzione libera era formata dai segmenti genitali, sacche ovigere e addome. Dalle caratteristiche morfologiche tutti i copepodi isolati sono risultati appartenenti alla specie *L. sultanus*. Tali parassiti avevano diversa localizzazione; in *M. barbatus* erano tutti localizzati nella volta palatina. Dei 6 pagelli positivi, 2 soggetti presentavano i parassiti ancorati nel palato, 3 nella narice, 1 esemplare nella porzione ventrale esterna intramandibolare. Nell'unico esemplare di triglia positivo *L. sultanus* era infisso nel palato. La spigola era invece infestata da 3 copepodi tutti a sede intramandibolare esterna. Il danno tissutale indotto, era riferibile a tragitti dovuti al passaggio del copepode circoscritti da spesse pareti di reazione granulomatosa. In tutti i casi il parassita penetrava per circa 5-10 mm all'interno dell'ospite, distruggeva l'epitelio, causando danni e deformità sia alle strutture ossee che cartilaginee. La presenza di questi pennellidi sugli ospiti potrebbe ritardarne la crescita, inoltre, lo stress cronico a cui gli stessi sono sottoposti potrebbe renderli maggiormente sensibili alla contrazione di altre patologie. Infestioni parassitarie, anche non gravi, sono comunque in grado di suscitare allarme o repulsione nel consumatore, soprattutto quelle con sede inusuale intramandibolare esterna come da noi osservato in un pagello bastardo e in una spigola.

## TELOHANIASI IN GAMBERO DI FIUME *AUSTROPOTAMOBIOUS PALLIPES* COMPLEX IN UN CORSO D'ACQUA DELLA PROVINCIA DI BELLUNO

Quaglio F.<sup>1</sup>, Capovilla P.<sup>2</sup>, Fioravanti M.L.<sup>3</sup>, Gustinelli A.<sup>3</sup>, Marino F.<sup>4</sup>, Laurà R.<sup>5</sup>, Florio D.<sup>3</sup>, Fioretto B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Sanità Pubblica, Patologia Comparata e Igiene Veterinaria, Legnaro (PD);

<sup>2</sup>Dirigente Vet. 1° liv. Area B Reg. Veneto ULSS 10 San Donà di Piave, Venezia;

<sup>3</sup>Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Ozzano dell'Emilia (BO);

<sup>4</sup>Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria, Messina; <sup>5</sup>Dipartimento di Morfologia, Biochimica, Fisiologia e Produzione Animale, Messina

Il gambero di fiume *Austropotamobius pallipes* complex, specie indigena europea, è oggetto di tutela in quanto considerato a rischio di estinzione secondo la Direttiva 92/43 CEE.

Nel periodo estivo ed autunnale 2004 - 2006 sono stati effettuati monitoraggi sanitari su gamberi di fiume della provincia di Belluno, per la ricerca di *Thelohania contejeani* Henneguy 1892, microsporidio parassita responsabile della malattia della porcellana o telohaniasi.

Sono stati pescati complessivamente 177 esemplari di *Austropotamobius pallipes* complex in sei corsi d'acqua: 16 nel Gresal, 1 nel Morol, 20 nel Lago delle Tose (Lagole), 90 nel Valturcana, 27 nell' Ardo e 23 nel Vena d'oro.

Tutti i crostacei sono stati sottoposti ad osservazione macroscopica volta a rilevare i segni clinici della malattia e solo una ridotta percentuale dei campioni, in relazione alla consistenza della popolazione, è stata sottoposta ad esami di laboratorio.

L'esame parassitologico è stato effettuato mediante osservazione microscopica a fresco di porzioni dei muscoli scheletrici e l'esame istologico su sezioni trasverse e longitudinali di cefalotorace ed addome colorate con differenti metodiche istochimiche. Sono state inoltre condotte alcune osservazioni in microscopia elettronica (TEM) sui parassiti reperiti.

La presenza di *Thelohania contejeani* è stata rilevata in un unico esemplare proveniente dal corso d'acqua Vena d'oro, con percentuale di positività pari al 4,3% del lotto esaminato da tale provenienza. Tutti i campioni provenienti dagli altri corsi d'acqua sono risultati negativi all'esame parassitologico ed istologico.

Nel soggetto infetto, che si presentava letargico, la muscolatura della porzione addominale e degli arti appariva uniformemente opaca e di color bianco gesso.

All'esame parassitologico ed istologico la muscolatura scheletrica del soggetto positivo si mostrava massivamente infarcita di spore del microsporidio con rari depositi di melanina a carattere focale, mentre il miocardio e le fibre muscolari intestinali erano interessate con minore gravità dalla parassitosi. A livello branchiale i nefrofagociti risultavano ripieni di piccole masse di spore.

Nella muscolatura scheletrica si osservavano con maggiore frequenza spore mature del parassita e, più raramente, vescicole sporofore. Le spore mature erano di forma ovale e misuravano in media 4 µm di lunghezza e 2,2 µm di larghezza.

In questo studio viene segnalata per la prima volta la presenza, seppure sporadica, del microsporidio *Thelohania contejeani* in una popolazione di gamberi di fiume dell'Italia nord-orientale.

**POTENZIALE IMPIEGO DI SOSTANZE NATURALI IN ACQUACOLTURA: VALUTAZIONE DI TOLLERABILITÀ SU SPIGOLA (*DICENTRARCHUS LABRAX*) ED ORATA (*SPARUS AURATA*) DELL'ESTRATTO DI NEEM CAKE (*AZADIRACHTA INDICA*)**

Guandalini E.<sup>1</sup>, Bronchini S.<sup>2</sup>, Bennati L.<sup>2</sup>, Nicoletti M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Istituto Superiore di Sanità; <sup>2</sup>Agroittica Toscana; <sup>3</sup>Univ. La Sapienza, Dip. di Farmacologia

Gli interventi terapeutici e di profilassi in acquacoltura, utilizzando i pochi farmaci veterinari registrati in Italia e nella UE, spesso risultano poco efficaci. Inoltre, c'è una crescente attenzione alle problematiche di impatto ambientale ed alla sicurezza alimentare (residui nei tessuti), che condizionano il ricorso alle sostanze farmacologiche tradizionali anche in casi di effettiva necessità. Partendo da queste considerazioni, è stato predisposto uno studio sperimentale per verificare l'eventuale azione antiparassitaria (ectoparassiti) dell'estratto di Neem cake su pesci di allevamento. Neem cake è il sottoprodotto del processo di pressatura dei frutti e delle foglie di *Azadirachta indica*, da cui si ricava l'olio di Neem. I componenti principali presenti nell'olio di Neem sono i nortriterpeni noti come azadiractine, tra cui azadiractina, azadiradione, salannina e nimbina. La sua attività insetticida è stata dimostrata su oltre 200 specie di insetti, agendo principalmente come antifeedant e interferente di crescita su stadi larvali, ma è stata studiata anche come antibatterico. L'azadiractina è biodegradabile e mostra una tossicità molto bassa per i mammiferi (nel ratto  $DL_{50} > 3540$  mg/kg).

Il Neem cake utilizzato è stato soggetto a ripartizione acetato di etile/acqua e la fase organica ha rivelato tre componenti principali: a) una componente lipidica, contenente acidi grassi e derivati trigliceridi; b) una componente ricca di composti aromatici, ben visibili all'UV, che all'analisi RMN ha premesso di evidenziare la presenza di uno scheletro comune policiclico; c) una componente priva di reazione all'UV, ove si trovano nor-triterpeni, tra cui le azadiractine. In questa prima fase di sperimentazione è stata valutata la tollerabilità del prodotto somministrato, consistente nell'estratto con acetato di etile, addizionato con una piccola quantità di tween per aumentarne la solubilità, a diverse concentrazioni su stadi giovanili di spigole ed orate in allevamento.

**1 Prova** – In avannotteria sono state predisposte 6 vasche circolari tronco-coniche in resina da 500 l. 2 vasche con 20 orate, 2 vasche con 20 spigole, 1 vasca controllo orate, 1 vasca controllo spigole. Le orate e le spigole utilizzate pesavano in media circa 15 g/pz. Sono state testate due concentrazioni dell'estratto: 2 mg/l e 4 mg/l, ognuna frazionata in due somministrazioni giorno. Il periodo di somministrazione è stato di 5 giorni consecutivi. Il tempo di esposizione dei pesci alle concentrazioni piene (chiusura dell'acqua in entrata) è stato di 45 minuti. **2 Prova** – La seconda prova è stata svolta nelle stesse identiche condizioni. Le orate e le spigole utilizzate pesavano circa 40 g/pz. Le concentrazioni provate sono state di: 8 mg/l e 16 mg/l, ugualmente suddivise in due somministrazioni giorno.

In entrambe le prove e con le diverse concentrazioni non sono stati osservati nei pesci reazioni avverse all'esposizione dell'estratto del Neem cake. Non sono stati registrati comportamenti anomali né effetti tossici, né mortalità. Va considerato che le orate e le spigole utilizzate nell'esperimento erano stadi giovanili e quindi ancora molto delicati e sensibili ad esposizioni di sostanze estranee. Inoltre, nella seconda prova le concentrazioni impiegate sono state significativamente alte, se paragonate alle concentrazioni di altri principi attivi generalmente impiegati in acquacoltura. Questa prima fase di valutazione sulla tollerabilità dell'estratto del Neem cake, consente di proseguire la sperimentazione applicandola su soggetti infestati da ectoparassiti (*Oodinium* sp., *Gyrodactylus* sp., *Trichodina* sp.) senza esporre gli organismi ittici a rischi di tossicità acuta ed osservare il potenziale terapeutico.

**ABSTRACT**

**Poster**

## **EFFETTO VIRUCIDA DI UN DISINFETTANTE COMMERCIALE CONTRO BETANODAVIRUS**

Volpe E.<sup>1</sup>, Grodzki M.<sup>1</sup>, Boscolo Palo D.<sup>2</sup>, Ciulli S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna;* <sup>2</sup>*Dipartimento di Scienze Animali, Università degli Studi di Udine*

I *Betanodavirus* causano una patologia infettiva denominata Encefalo Retinopatia Virale (ERV) in molteplici specie ittiche marine allevate responsabile di sintomatologia nervosa e mortalità, con conseguenti elevate perdite economiche. Il settore che maggiormente risente dei danni economici dovuti all'ERV in Italia è quello dell'allevamento del branzino (*Dicentrarchus labrax*) che copre la parte maggiore delle produzioni ittiche marine. Gli stadi di sviluppo maggiormente colpiti sono quelli larvali e giovanili anche se sono riportati focolai anche in soggetti di taglia commerciale. Attualmente non sono disponibili terapie e vaccini che permettano un adeguato controllo della ERV. Il controllo della malattia è quindi affidato al mantenimento di corrette procedure igienico-sanitarie, attività di screening ed alla corretta gestione dell'allevamento con particolare attenzione alla densità della biomassa.

Al fine di ampliare le conoscenze sull'efficacia di prodotti disinfettanti verso *Betanodavirus* sono state intraprese, in questo studio, delle prove *in vitro* per valutare l'attività virucida specifica di un prodotto commerciale denominato VirkonS® già ampiamente utilizzato in ambito zootecnico.

Questo disinfettante è stato scelto per le sue qualità ottimali di ampio spettro di efficacia, innocuità sia per gli operatori che per gli animali, veloce degradabilità con assenza di residui che ne determinano una utilizzazione ottimale anche nell'ambiente acquatico. Questo prodotto inoltre risponde già ai requisiti della Direttiva 98/8/CE relativa all'immissione sul mercato dei biocidi.

Per uniformare i risultati dei test di valutazione dell'attività virucida del disinfettante, le prove sono state eseguite secondo il protocollo BS EN 14675:2006 messo a punto dalla BSi-British Standards ed approvato dalla CEN (Comité Européen de Normalisation) riconosciuto come standard della Comunità Europea. L'attività virucida è stata valutata in considerazione di diversi tempi di contatto, diverse temperature di incubazione, presenza di sostanza interferente. Tutti i test sono stati svolti utilizzando la linea cellulare SSN-1, ideale per la coltivazione *in vitro* dei *Betanodavirus*. Secondo il protocollo l'attività virucida viene calcolata sottraendo il titolo virale ottenuto dopo il trattamento al titolo virale riscontrato senza trattamento, in questo modo si ottiene un risultato in base logaritmica chiamato riduzione relativa (R). Affinché un disinfettante possa considerarsi efficace secondo il protocollo BS EN 14675:2006 deve portare alla riduzione di almeno 4 logaritmi ( $R \geq 4$ ).

Il VirkonS®, in tutte le condizioni testate, ha ottenuto una riduzione relativa sempre maggiore a 4 ed in particolare, in presenza del disinfettante non si è mai registrata attività virale residua. Questo studio ha permesso la valutazione dell'efficacia virucida di un disinfettante commerciale che ha mostrato un elevato potere virucida nei confronti di *Betanodavirus* suggerendo una sua possibile applicazione efficace per il controllo della ERV nel settore dell'acquacoltura marina.

## CRYPTOBIOSI GASTRICA IN CICLIDI ORNAMENTALI

Gustinelli A.<sup>1</sup>, Quaglio F.<sup>2</sup>, Salvagiani P.<sup>3</sup>, Caffara M.<sup>1</sup>, Fioravanti M.L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Università di Bologna;

<sup>2</sup>Dipartimento di Sanità Pubblica, Patologia Comparata ed Igiene Veterinaria, Università di Padova; <sup>3</sup>Associazione Italiana Ciclidofili

Nel settore dell'acquariofilia i ciclidi africani rappresentano un vasto gruppo comprendente numerose specie di notevole interesse commerciale ed oggetto di intense sperimentazioni volte ad ottimizzarne la riproduzione in cattività e consentirne l'allevamento senza ricorrere al prelievo in natura. Tra questi il genere *Petrochromis* è considerato un gruppo piuttosto raro e poco conosciuto dal punto di vista tassonomico e biologico. Nel corso degli ultimi anni si sono registrati vari episodi morbosi ad alta letalità a carico dei lotti appartenenti alla prima generazione di esemplari di *Petrochromis* sp. nati in acquario da esemplari prelevati in natura (lago Tanganica). I pesci colpiti presentavano segni clinici quali apatia, disfagia, iporessia, dimagrimento progressivo con addome rigonfio, feci filamentose biancastre e morte a stillo. La malattia si presentava perlopiù con andamento epidemico ed interessamento della maggior parte dei pesci presenti nella stessa vasca. Il decorso era subacuto con *exitus* ad altissima percentuale nel giro di 1-2 settimane. Non avendo sortito alcun effetto un primo intervento terapeutico a base di un generico antiprotozario commerciale per uso acquariologico, un primo gruppo di 8 esemplari, prelevato da un lotto di una cinquantina di giovanili già visibilmente affetti da tale patologia, è stato sottoposto ad indagini di laboratorio volte a individuare la *causa mortis* mediante esami parassitologici, batteriologici ed istologici. L'esame parassitologico ha permesso di individuare in tutti i soggetti esaminati la presenza di flagellati ascrivibili alla specie *Cryptobia iubilans* a livello gastrico, in associazione a quadri di grave granulomatosi a carico di quest'organo. I parassiti si presentavano perlopiù all'interno dei granulomi, spesso in posizione endocellulare, e dotati di deboli movimenti, mentre in alcuni casi erano liberi nel lume e fortemente mobili. L'esame batteriologico ha permesso di isolare *Aeromonas sobria* da tutti i soggetti esaminati. Gli esami batterioscopici condotti su impronte di organo colorate con Ziehl-Neelsen per la ricerca di batteri acido-alcool resistenti hanno dato sempre esito negativo. L'esame istologico dei pesci evidenziava un quadro di gastrite granulomatosa diffusa nella sottomucosa con granulomi raramente isolati e per lo più multipli o coalescenti con intensa reazione fibrosa periferica. Nei soggetti più gravemente colpiti la mucosa si presentava ulcerata e quasi totalmente erosa. All'interno dei granulomi si osservavano in gran numero elementi flagellati di forma ovoidale allungata, spesso in posizione endocellulare, talvolta alterati o frammentati in detriti. Le lesioni granulomatose ed i flagellati non risultavano presenti in altri distretti dell'ospite, dove peraltro non si individuavano alterazioni patologiche di rilievo. In base a tali reperti si è proceduto a sottoporre il lotto colpito a terapia antibiotica in associazione a metronidazolo. Ad una settimana dall'intervento terapeutico, su 4 soggetti sono state condotte le stesse indagini di laboratorio sopra descritte, evidenziando la persistenza delle lesioni granulomatose ma con minor presenza di parassiti mobili. Nei 3 mesi successivi gli esemplari sopravvissuti non presentavano più segni esteriori di malattia e la mortalità risultava essersi completamente arrestata, con una buona ripresa della crescita in circa la metà dei soggetti del lotto colpito. Alla luce della trasmissione diretta per via oro-fecale, della frequente localizzazione endocellulare e dell'elevata patogenicità, *C. iubilans* rappresenta per i ciclidi stabulati in acquario un temibile parassita enterico verso cui dovranno essere messe a punto urgentemente strategie di profilassi efficaci.

## PRIMO RITROVAMENTO DEL PROTOZOO *MARTEILIA REFRINGENS* LUNGO LE COSTE CAMPANE

Carella F.<sup>1</sup>, Aceto S.<sup>1</sup>, Maiolino P.<sup>2</sup>, De Vico G.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Università degli Studi di Napoli Federico II, Dipartimento delle Scienze Biologiche, Via Mezzo Canone 8, 80134, Napoli; <sup>2</sup>Università degli Studi di Napoli Federico II, Dipartimento di Patologia e Sanità Animale, Via Delpino 1, 80137, Napoli

*Marteilia refringens* è l'agente eziologico della Marteiliosi, o Aber disease, che in Francia, negli anni 60', causò mortalità dell' 80% dell'allevamento locale di ostriche piatte (*Ostrea edulis*) oltre a portare a casi di mortalità, sebbene più lievi, in allevamenti di mitili in diverse aree europee (OIE 2009). Il primo ritrovamento italiano risale al 1980, nella laguna di Venezia; in seguito è stata riscontrata in mitili e ostriche in differenti zone italiane. Per tale motivo, l'O.I.E. (Office International des Epizooties 2009) ha inserito la Marteiliosi, sostenuta da *M. refringens*, tra le malattie soggette a denuncia obbligatoria (D.lgs. 148/2008). Recenti studi di biologia molecolare hanno messo in evidenza due profili di *Marteilia*: il tipo "O" corrispondente a *M. refringens* proprio delle ostriche, e il tipo "M" corrispondente a *M. maurini* presente invece nei mitili.

Nel corso del biennio 2008-2009, in seguito a un piano di monitoraggio atto a valutare lo stato di salute della specie *Mytilus galloprovincialis* lungo le coste campane, sono stati campionati 14 allevamenti e 2 banchi naturali. Trenta individui per area sono stati processati per l'esame istopatologico; parte dell'animale è stato inoltre conservato per eventuali indagini molecolari. Gli esami istologici e molecolari hanno rilevato la presenza del protozoo *Marteilia refringens* tipo "M" nei campioni, con una prevalenza del 15% in un banco naturale e del 14% e 30% in 2 allevamenti. Per tali campioni è stata effettuata una quantizzazione dello stato d'infezione e della risposta dell'ospite mediante l'utilizzo di scale semiquantitative che fornissero un punteggio circa la Percentuale di Tubuli Coinvolti (PTC) e la Reazione Difensiva (RD). Le differenti fasi del ciclo vitale di *Marteilia* sono state rilevate in corrispondenza dell'apparato alimentare dei mitili infetti: fasi iniziali, rappresentate dalla presenza di cellule primarie a livello dello stomaco e dell'epitelio intestinale accompagnate da scarsi fenomeni difensivi, e fasi più avanzate, costituite da cellule secondarie e terziarie, accompagnate talora da una reazione emocitaria interstiziale, da moderata a forte, della ghiandola digerente, con conseguente distruzione dell'epitelio ghiandolare.

## RICERCHE SULLA PRESENZA DI *TETRACAPSULOIDES BRYOSALMONAE* (MYXOZOA, MALACOSPOREA) IN BRIOZOI E TROTE D'ALLEVAMENTO IN ITALIA

Gustinelli A.<sup>1</sup>, Giorgi I.<sup>2</sup>, Cavina R.<sup>1</sup>, Caffara M.<sup>1</sup>, Fioravanti M.L.<sup>1</sup>, Prearo M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Università di Bologna;  
<sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino

*Tetracapsuloides bryosalmonae* (Myxozoa, Malacosporea) rappresenta l'agente eziologico della Malattia Proliferativa Renale, importante sindrome immunopatica ad eziologia parassitaria dei salmonidi. Sebbene questa malattia sia descritta in Italia da lungo tempo nelle trote d'allevamento, l'agente eziologico non risulta ancora segnalato nei briozoi, che rappresentano gli ospiti invertebrati necessari per il completamento del ciclo biologico e per la trasmissione del parassita all'ospite pesce. Nell'ambito di un Progetto di Ricerca Corrente finanziato dal Ministero della Salute, nel periodo dicembre 2008-ottobre 2009 sono state condotte ricerche volte a individuare la presenza di *T. bryosalmonae* nei briozoi e la sua attuale diffusione in sei trotilture storicamente infette, tutte situate nelle province di Treviso, Venezia e Udine. I campionamenti di briozoi sono stati realizzati nei sistemi fluviali connessi a questi allevamenti, compresi in 4 diversi bacini idrografici. Le indagini di campo sui briozoi sono state effettuate da dicembre 2008 a giugno 2009, prelevando ed esaminando 1389 colonie di briozoi appartenenti a diverse specie, mentre i campionamenti di trota iridea si sono svolti da dicembre 2008 a ottobre 2009, sottoponendo ad esame parassitologico complessivamente 184 trote. Sia i reni di trota che gli elementi parassitari reperiti nei briozoi sono stati inoltre sottoposti ad estrazione del DNA e a PCR impiegando i primers PKD3\_f e PKD6\_r che permettono l'amplificazione di un frammento di circa 450 bp del 18S rRNA. Le colonie di briozoi sottoposte a campionamento e ad esame parassitologico sono risultate appartenere a 4 specie di 3 diversi generi: *Plumatella fungosa*, *P. fruticosa*, *Fredericella sultana* e *Cristatella mucedo*. L'osservazione microscopica delle 1389 colonie di briozoi prelevate nel corso dell'indagine ha evidenziato la positività per stadi sacciformi contenenti spore di *T. bryosalmonae* in 2 colonie di *F. sultana* provenienti dal fiume Sile, provincia di Treviso. L'analisi molecolare ha confermato l'appartenenza delle spore reperite nei briozoi alla specie *T. bryosalmonae*. Per quanto concerne le 184 trote iridee esaminate, l'analisi parassitologica condotta con metodi tradizionali (esame anatomo-patologico ed esame microscopico di impronte di rene e milza sottoposte a colorazione con May-Grünwald-Giemsa) e molecolari ha permesso di rilevare la presenza di *T. bryosalmonae* solo nei soggetti provenienti da due allevamenti, uno sito in provincia di Treviso ed uno in provincia di Udine, nel periodo giugno-settembre. In conclusione, i risultati delle ricerche oggetto della presente indagine hanno permesso di individuare per la prima volta in Italia gli stadi di sviluppo di *T. bryosalmonae*, parassita responsabile della Malattia Proliferativa Renale dei Salmonidi, in colonie di briozoi provenienti da sistemi acquatici connessi ad allevamenti positivi per questa malattia, confermando anche per il territorio nazionale il ruolo chiave dei briozoi, ed in particolare della specie *Fredericella sultana*, nell'epidemiologia di questa malattia parassitaria. Il riscontro del parassita e della malattia solo in due dei sei allevamenti presi in considerazione va posto in relazione all'applicazione di alcuni interventi di controllo da parte degli allevatori, quali *in primis* l'utilizzo di acqua di pozzo in sostituzione di acque superficiali e/o l'introduzione posticipata dei pesci in modo da porli in contatto con gli stadi infettanti del parassita in un momento di diminuita eliminazione da parte dei briozoi e di progressiva riduzione della temperatura.

## HELMINTH PARASITES OF EUROPEAN EEL *ANGUILLA ANGUILLA* L. FROM ST. GILLA LAGOON (SARDINIA, SOUTH WESTERN MEDITERRANEAN)

Culurgioni J., De Murtas R., Figus V.

*Dip. di Biologia Animale ed Ecologia - Università di Cagliari – via T. Fiorelli 1, Cagliari*

Twenty specimens of wild European eel *Anguilla anguilla* L. from St. Gilla lagoon, (Sardinia, South Western Mediterranean), were examined for metazoan parasite infections. Aim of this study was to describe the parasite community of this commercially important species, and to compare the new data with those previously recorded in the same area and in other Sardinian and Italian lagoons.

The eels, collected in February and March 2010, were transported to the laboratory, measured and weighed. Dissections were performed using standard parasitological techniques. All the parasites were removed, identified according to morphological criteria, preserved in 70% or 90% ethanol or AFA, and counted. Parasite prevalence (P%) and its 95% confidence intervals, intensity (I), mean intensity (MI), and abundance (A) were calculated.

All the fish examined proved infected at least by one of the 5 parasite species detected. The following species were observed: *Bucephalus anguillae* (Digenea: Bucephalidae), *Deropristis inflata* (Digenea: Deropristidae), Cestoda Tetraphyllidae larvae, *Contracaecum rudolphii* larvae (Nematoda: Anisakidae) and an unidentified Acanthocephala larva. Overall, the dominant species was the digenean *B. anguillae* with prevalence of 55.0% and intensity range 2-45 (MI = 11.9). The nematode *C. rudolphii* (P% = 25.0) is reported for the first time in *A. anguilla* from brackish waters of Sardinia.

These first results show a variation of the composition of parasitic community, confirming the presence of only 2 species amongst the 6 previously recorded in St Gilla lagoon (Figus V., Corriga W. & Canestri Trotti G., 2002 – Elminti parassiti di *Anguilla anguilla* nelle lagune di Cabras, S.ta Giusta e S.ta Gilla (Sardegna-Italia). Boll. Soc. It. Patol. Ittica, 34: 23-33). It's interesting to point out that the four lacking species are freshwater specialist parasites: the highly pathogenic nematode *Anguillicola crassus*, the cestodes *Proteocephalus macrocephalus* and *Bothriocephalus claviceps*, and the acanthocephalan *Acanthocephalus clavula*. This may be indicative of ongoing environmental changes affecting the salinity of the lagoon waters.

The absence of *A. crassus* should be considered as a positive health indicator of the eel stock of St Gilla lagoon, but it needs to be verified on a larger sample of fish.

Acknowledgements: research supported by MIUR-PRIN 2008.

## SEGNALAZIONE DI *PHILOMETRA SPICARAE* N. SP. IN *SPICARA SMARIS* (CENTRACANTHIDAE, PERCIFORMES) NEL MAR IONIO

Gaglio G., Marino F., Ferlazzo M., De Domenico E.<sup>1</sup>, Zizzo N.<sup>2</sup>, Moravec F.<sup>3</sup>

*Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria; <sup>1</sup>Dipartimento di Biologia Animale ed Ecologia Marina, Università degli Studi di Messina; <sup>2</sup>Dipartimento di Sanità e Benessere degli Animali, Università degli Studi di Bari; <sup>3</sup>Institute of Parasitology, Biology Centre of the Academy of Sciences of the Czech Republic*

Lo zero (*Spicara smaris*) è un pesce diffuso nel Mar Mediterraneo e nell'Oceano Atlantico Orientale con scarso valore commerciale sui nostri mercati dove compare saltuariamente. Kostina nel 1961 segnala, nel Mar Nero, in quest'ospite la presenza di un nematode Philometridae identificandolo come *Philometra filiformis*, parassita che infesta le gonadi del pagello fragolino (*Pagellus erythrinus*). Scopo del presente lavoro è quello di segnalare la presenza di una nuova specie di *Philometra* nella cavità celomatica di *Spicara smaris* nel Mar Ionio. Nel corso di una campagna di pesca effettuata durante il mese di giugno 2009 nel Mar Ionio (37°12'99"N; 15°13'36"E), sono stati prelevati 2 esemplari di *S. smaris*. Uno dei due pesci (peso: 85g; lunghezza totale: 17,7 cm) mostrava un leggero rigonfiamento addominale. All'apertura della cavità celomatica veniva evidenziato un nematode di notevoli dimensioni, successivamente processato per indagini al microscopio ottico ed elettronico a scansione. Il parassita, una femmina gravida, appariva di colore bianco-rossastro lungo 23,3 cm e largo 1,90 mm rivestito da cuticola liscia. L'estremità anteriore si presentava arrotondata con un'apertura orale rotondeggiante circondata da 4 paia di papille cefaliche submediane esterne, 4 papille submediane interne e 2 singole papille localizzate nel circolo interno. L'esofago era lungo 1,5 mm (6% della lunghezza totale) mentre il legamento intestinale raggiungeva la lunghezza di 1,41 mm. Le larve presenti nell'utero dell'ospite erano lunghe 549-651 µm. I caratteri morfometrici evidenziati nel presente lavoro permettevano di identificare il nematode come appartenente al genere *Philometra*. Le marcate differenze esistenti tra la specie da noi studiata e le altre specie del genere *Philometra* descritte in letteratura consentivano di ascrivere il parassita alla nuova specie *Philometra spicarae*. Riteniamo che il nematode precedentemente segnalato in *S. smaris* nel Mar Nero e classificato, secondo alcuni autori, in modo errato come *P. filiformis*, potrebbe appartenere invece alla specie da noi descritta.

Questo ritrovamento rappresenta la prima segnalazione nel Mar Ionio di un nematode del genere *Philometra* in un ospite appartenente alla famiglia Centranchidae.

## INDAGINE SULLA PREVALENZA E SULL'ANTIBIOTICO RESISTENZA DI *VIBRIO* SPP. ISOLATI DA PRODOTTI ITTICI

Costa A.<sup>1</sup>, Alio V.<sup>1</sup>, Masini L.<sup>2</sup>, Russo Alesi E.M.<sup>1</sup>, Di Noto A.M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Palermo; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell' Umbria e delle Marche, Ancona

Il genere *Vibrio* comprende microrganismi molto diffusi nelle acque marine e facilmente isolabili da diverse specie ittiche come pesci, molluschi bivalvi e cefalopodi, crostacei. Il ruolo svolto da ceppi patogeni di *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* e *V. vulnificus* nelle patologie gastroenteriche, dovute in particolare al consumo di molluschi bivalvi e prodotti ittici crudi, è documentato da tempo; rare le segnalazioni di tossinfezione alimentare dovute ad altri vibrioni alofili, tra i quali *V. alginolyticus* la cui esatta patogenicità è attualmente in studio. Scopo del presente lavoro è stato quello di valutare la prevalenza di *Vibrio* spp. in pesci e molluschi, sia pescati che provenienti da siti di acquacoltura delle coste siciliane, con particolare riferimento a *V. parahaemolyticus*. Nel periodo 2006-2009 sono stati analizzati un totale di 250 campioni di alimenti ittici tra cui: 110 molluschi bivalvi vivi (93 campioni di mitili, 11 di vongole e 6 di ostriche) provenienti da impianti di allevamento e di stabulazione, 20 campioni di orate d'allevamento, 20 molluschi cefalopodi (5 campioni di calamari, 4 di totani e 11 di polpi) e 100 teleostei freschi provenienti da pescherie della Sicilia occidentale. Per la ricerca di *Vibrio* spp. potenzialmente patogeni (ISO/TS21872-1:2007) sono stati utilizzati un terreno cromogeno (CHROMagar) ed il TCBS agar; le colonie sospette sono state identificate mediante prove biochimiche di conferma (TSI-S agar, test di alotolleranza, prova dell'indolo, test dell'arginina, lisina e ornitina) e/o mediante sistemi biochimici miniaturizzati. I ceppi identificati come *V. parahaemolyticus* sono stati ulteriormente caratterizzati mediante PCR per la presenza dei geni specie-specifici (*toxR* e *tlh*) e per i geni tossigeni (*tdh* e *trh*). L'antibioticoresistenza è stata determinata con il metodo di diffusione in agar testando i seguenti antibiotici: amoxicillina + ac. clavulanico, ampicillina, cefotaxime, cefalotina, ciprofloxacina, cloramfenicolo, colistina, gentamicina, kanamicina, tetraciclina, trimetoprim-sulfametoxazolo. Su 250 campioni analizzati, 80 (32%) sono risultati contaminati da *Vibrio*, di cui 53 (66,3%) campioni di molluschi bivalvi, 23 di teleostei (28,7%) e 4 di molluschi cefalopodi (5,0%). La specie prevalente è stata *V. alginolyticus* (81,3%) isolata in particolare nei bivalvi (65%), seguiti da teleostei e da cefalopodi. Riguardo *V. parahaemolyticus*, sono stati isolati 11 ceppi (13,8%) di cui 10 nei mitili e 1 in un campione di teleostei (sarde). Tra i vibrioni minori, identificati: *V. littoralis* e *V. metschnikovii*. I ceppi di *Vibrio* spp. sono stati isolati in qualunque periodo dell'anno: in alcuni campioni di mitili sono stati isolati due specie di *Vibrio*. Non sono state identificate altre specie di interesse sanitario quali *V. vulnificus* e *V. cholerae*. Tra gli 11 isolati di *V. parahaemolyticus*, 1 ceppo è risultato *tdh+* e 1 ceppo *trh+*, entrambi isolati da mitili, rispettivamente sierotipizzati come O8 K36 e OUT K30. I ceppi di *V. parahaemolyticus*, riguardo l'antibioticoresistenza, sono risultati sensibili agli antibiotici testati, tranne 4 resistenti all'ampicillina, 3 alla tetraciclina e 1 resistente ad amoxicillina + ac. clavulanico, ampicillina e colistina. I ceppi di *V. metschnikovii* presentavano resistenza ad ampicillina e tetraciclina; la maggior parte dei ceppi di *V. alginolyticus* hanno mostrato resistenza ad ampicillina ed amoxicillina. In conclusione, i dati ottenuti ci permettono di confermare la diffusione di *Vibrio* spp. potenzialmente patogeni in prodotti ittici, in particolare nei molluschi bivalvi, la resistenza della maggior parte dei ceppi ai  $\beta$ -lattamici, nonché la capacità tossigena dei ceppi ambientali di *V. parahaemolyticus*.

## ATTIVAZIONE DEL PRIMO NETWORK NAZIONALE DI RICERCA SULLA FOTOBATTERIOSI

Prearo M.<sup>1</sup>, Bozzetta E.<sup>1</sup>, Bossù T.<sup>2</sup>, Castiglione F.<sup>3</sup>, Centoducati G.<sup>4</sup>, De Carlo E.<sup>5</sup>, Fioravanti M.L.<sup>6</sup>, Ghittino C.<sup>7</sup>, Giorgi I.<sup>1</sup>, Manfrin A.<sup>8</sup>, Minardi D.<sup>1</sup>, Righetti M.<sup>1</sup>, Rubini S.<sup>9</sup>, Salati F.<sup>10</sup>, Serracca L.<sup>1\*</sup>, Ercolini C.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino; \* Sezione territoriale di La Spezia; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana, Roma; <sup>3</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Palermo; <sup>4</sup>Dpt. Sanità Pubblica e Zootecnia, Valenzano (BA); <sup>5</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Salerno; <sup>6</sup>Dpt. Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Ozzano Emilia (BO); <sup>7</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Terni; <sup>8</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Adria (RO); <sup>9</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Cassana-Ferrara; <sup>10</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Oristano

La Fotobatteriosi è comparsa sul territorio nazionale a partire dai primi anni '90 in episodi di mortalità dapprima in cefali selvatici e successivamente in branzini ed orate allevate. Dal 2006 si è potuta osservare una recrudescenza soprattutto in popolazioni selvatiche di cefali, con segnalazioni di imponenti mortalità nelle zone adiacenti alle foci di fiumi (Magra e Garigliano) o in vicinanza di scali portuali (Genova); contemporaneamente anche in altre parti del bacino del Mediterraneo sono occorsi gravi episodi di mortalità (Spagna e Grecia). Alla luce di questa nuova emergenza diversi gruppi di ricerca hanno iniziato a studiare i fenomeni e nel 2007 è nato il primo network nazionale di ricerca sulla Fotobatteriosi con fondi del Ministero della Salute, che l'anno successivo ha ottenuto ulteriori finanziamenti, ampliando la propria sfera di competenza, assumendo la connotazione attuale.

Vista la particolarità del fenomeno, la creazione di questo network di ricerca si è resa opportuna soprattutto per approfondire gli studi sul patogeno mediante l'utilizzo di metodiche e protocolli comuni per tutti i laboratori di diagnosi, allo scopo di ottenere successivamente risultati confrontabili dalle diverse zone.

Scopo del presente lavoro è quello di rendere noti gli obiettivi che il network si prefigge di effettuare nel corso dei prossimi anni. Tra gli obiettivi iniziali, il rilevamento e la mappatura dei fenomeni pregressi di mortalità, a partire dal 2005 in poi e l'adozione di procedure comuni per l'isolamento del germe e la sua identificazione, creando apposite Procedure Operative Standard che dovranno essere adottate da tutte le Unità Operative, al fine di armonizzare e standardizzare le operazioni, sono quelli di primaria importanza. Inoltre si dovrà costruire una rete di laboratori per poter procedere celermente e senza gravi costi aggiuntivi, alle conferme tramite studi biomolecolari e sierologici. Quindi, la creazione di questo network di ricerca ha lo scopo di acquisire conoscenze epidemiologiche relative alla diffusione di *Photobacterium damsela* spp. *piscicida* nei pesci selvatici e allevati, sia in Italia che nel bacino del Mediterraneo, al fine di valutare se realmente ci sia stato un cambiamento del patogeno in relazione al tropismo di specie e/o alla sua patogenicità, di stabilire possibili differenze genomiche tra i vari ceppi isolati, mediante studi di filogenesi ed eventuali correlazioni patogenetiche e di arrivare all'utilizzo di alcuni bioindicatori (quali molluschi o altri organismi marini), per valutare e rilevare un aumento della carica batterica ambientale specifica.

**PRESENZA DI *PHOTOBACTERIUM DAMSELAE* SSP. *PISCICIDA* IN CEFALI (*MUGIL CEPHALUS* E *LIZA AURATA*)**

Serracca L.<sup>1</sup>, Prearo M.<sup>2</sup>, Rossini I.<sup>1</sup>, Battistini R.<sup>1</sup>, Giorgi I.<sup>2</sup>, Ercolini C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Laboratorio di Microbiologia Marina sezione di La Spezia, Via degli Stagnoni, 96-19136 La Spezia; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Laboratorio Specialistico Ittiopatologia, Via Bologna, 148 – 10154 Torino

Nell'estate del 1990 una grave epizoozia colpì la popolazione ittica del fiume Magra, in provincia della Spezia, coinvolgendo le specie di mugilidi presenti. Gli accertamenti microbiologici portarono all'isolamento e all'identificazione di un batterio allora denominato *Pasteurella piscicida* e successivamente *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida*, ritenuto esotico per l'Italia, ma che in altri areali era stato frequentemente associato ad imponenti morie ittiche. Negli anni successivi la patologia non si è più manifestata in forma così eclatante, ma solo con focolai sporadici di piccola entità, sino al 2006 e al 2007 anni in cui la patologia si è ripresentata con effetti disastrosi. A seguito di questi eventi è stata intrapresa un'attività di monitoraggio sui cefali presenti in quest'area per seguire il fenomeno e cercare di individuarne le cause. Il monitoraggio si è sviluppato nell'arco di 2 anni con prelievi a cadenza mensile nei periodi più caldi dell'anno (maggio-settembre 2008 e maggio-ottobre 2009), periodi in cui la temperatura dell'acqua risulta maggiore di 15°C. In totale sono stati prelevati, alla foce del fiume Magra, nel comune di Amelia (SP), 278 cefali, appartenenti alle specie *Mugil cephalus* e *Liza aurata*.

Per ogni soggetto è stato effettuato un esame anatomopatologico consistente in un accurata ispezione, sia esterna che degli organi interni, al fine di poter valutare lo stato di salute del pesce e di poter rilevare eventuali segni di patologie in atto o lesioni da patologie pregresse. Per l'identificazione batterica da ogni soggetto è stata prelevata, in condizioni di sterilità, una porzione di milza, posta in brodo di arricchimento Tryptic Soy Broth 0.6% Yeast Extract (TSBYE) (Oxoid) e incubata per 24 ore a 30±2°C. Successivamente il DNA è stato estratto dalle cellule batteriche mediante bollitura a 100°C per 10' e sottoposto ad amplificazione genica (PCR) per verificare la presenza del gene codificante per una proteina putativa legante la penicillina 1A.

Nel monitoraggio del 2008 il 64% (99/154) dei pesci analizzati è risultato positivo alla presenza di DNA batterico nella milza, con un massimo nei mesi di Agosto e Settembre. Nel 2009 il 48% (60/124) è risultato positivo per *P. piscicida* con un massimo registrato nel mese di Luglio (100%). I campioni positivi sono stati confermati tramite sequenziamento genico come *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida* (Accession number EU164926).

Nessuno dei cefali positivi alla PCR mostrava segni clinici di malattia, ad eccezione di un soggetto pescato a Giugno 2008 che presentava noduli sulla milza, probabilmente dovuti a una malattia pregressa. In nessun campione è stato possibile isolare tramite tecniche colturali il microrganismo dalle milze. Si ipotizza che i pesci analizzati possano essere considerati serbatoi del microrganismo in esame, la cui persistenza ambientale è un importante fattore da considerare fra le cause di episodi epidemici.

Negli studi futuri risulta di fondamentale importanza poter correlare positività colturali e in PCR del microrganismo, con le condizioni ambientali. Le variazioni climatico ambientali delle acque (pH ossigeno disciolto e temperatura) possono rappresentare un informazione preziosa per valutare il passaggio del microrganismo dalla condizione di latenza a quella di patogeno attivo.

## MICOBATTERIOSI E RENE POLICISTICO IN *CARASSIUS AURATUS*: CONTRIBUTO PERSONALE

Caristina G., Marino F., Giorgianni P., Perillo A.\*, Macrì F.

*Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Messina; \*Dipartimento di Sanità e Benessere degli Animali, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Bari*

La Micobatteriosi è una patologia causata da batteri pleomorfi, acido resistenti, immobili, non sporulati, Gram-positivi, di dimensioni 0,2-0,6 µm per 1,5-3 µm, membri dell'ordine *Actinomycetales* e della famiglia *Mycobacteriaceae*. I micobatteri più frequentemente isolati nei pesci sono: *Mycobacterium marinum*, *M. fortuitum* e *M. chelonae*. Le Micobatteriosi sono state rilevate in un ampio numero di specie acquatiche in tutto il mondo, sia in pesci d'allevamento che selvatici, d'acqua dolce o salata. Le specie ornamentali, tuttavia, risultano particolarmente suscettibili. Gli Autori riportano la descrizione radiologica, ecografica ed anatomoistopatologica, di un caso di rene policistico in corso di Micobatteriosi in un *Carassius auratus*. Il pesce, inviato da un privato, presentava all'esame esterno: addome notevolmente aumentato di volume, atteggiamento asfittico, desquamazione cutanea e difficoltà di movimento e mantenimento della stazione. Al fine di identificare la natura della distensione addominale si è proceduto ad effettuare un esame ecografico della cavità celomatica. L'esame è stato eseguito in acqua, sul soggetto vivo, con l'utilizzo di una sonda ecografica di tipo lineare da 7.5 MHz di frequenza. L'esame ecografico ha evidenziato la presenza di numerose cisti renali, le cui dimensioni variavano da pochi millimetri a 3 cm di diametro; i reni gravemente deformati raggiungevano lo spessore di circa 6 cm; inoltre, è stata riscontrata la presenza di ascite in cavità celomatica. Il parenchima epatico appariva normale mentre la milza aumentata di volume. L'esame radiografico è stato realizzato post mortem con due proiezioni ortogonali, laterolaterale e dorsoventrale. I parametri di esposizione utilizzati sono stati 50 kV e 5 mAs; le dimensioni del soggetto hanno richiesto l'impiego di griglie antidiffusione. L'esame radiografico ha mostrato, in entrambe le proiezioni, la perdita di contrasto nell'area addominale, causata dalla presenza di numerose cisti e la ventralizzazione della vescica natatoria che, inoltre, appariva di dimensioni ridotte e con i 2 lobi particolarmente distanziati. All'esame anatomopatologico la milza era notevolmente aumentata di volume; i reni occupavano la maggior parte della cavità celomatica e contenevano numerose cisti multiple chiare, piene di liquido limpido. La presenza di queste grosse cisti multiple ha causato grave distensione e compressione del tessuto renale, nonché adesioni e compressioni con altri visceri e con la parete celomatica. Gli organi prelevati in seguito all'esame necroscopico venivano posti in formalina al 10% e inclusi in paraffina, tagliati in sezioni di 4µm e colorati con Ematossilina-Eosina, Ziehl-Neelsen e PAS. L'esame istologico della milza mostrava stasi ematica; le gonadi e i reni presentavano granulomi multipli diffusi, caratterizzati da un'area centrale di materiale necrotico, amorfo, eosinofilo, circondato da cellule epitelioidi e da una sottile capsula connettivale. La colorazione Ziehl-Neelsen mostrava numerosi batteri sia liberi che intracellulari; ciò ha portato ad effettuare indagini immunoistochimiche con anticorpo anti-*Mycobacterium avium*. La colorazione IHC ha confermato il genere *Mycobacterium*. Le indagini condotte hanno consentito di giungere alla diagnosi di Micobatteriosi complicata da rene policistico. L'interesse della presente segnalazione è giustificato dall'insolita associazione delle due patologie, peraltro insorte indipendentemente, nonché dalla documentazione ecografica e radiografica delle lesioni inusuale in specie ittiche.

## RITROVAMENTO DI *ASPIDOGASTER LIMACOIDES* DIESING, 1835 IN *RUTILUS PIGUS* (LACEPÈDE, 1803) PROVENIENTE DAL LAGO MAGGIORE, ITALIA

Minardi D.<sup>1</sup>, Paladini G.<sup>2</sup>, Righetti M.<sup>1</sup>, Arsieni P.<sup>1</sup>, Pavoletti E.<sup>1</sup>, Prearo M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Sezione di Torino, Italy; <sup>2</sup>Institute of Aquaculture, University of Stirling, Stirling, FK9 4LA, Scotland, UK

La famiglia Aspidogastridae Poche, 1907 consiste in un piccolo gruppo di trematodi ampiamente diffusi e comprende circa nove generi. I parassiti appartenenti a questa famiglia sono in grado di parassitare differenti tipologie di animali a sangue freddo marini e d'acqua dolce, come crostacei, molluschi, pesci e rettili. Tra i nove generi compresi nella famiglia, il genere *Aspidogaster* Baer, 1927 include la specie *A. limacoides* Diesing, 1835 descritta per la prima volta in *Leuciscus leuciscus* e in *L. idus* nel nord Europa e successivamente segnalato nei fiumi della regione del Mar Caspio e del Mar Nero, in altri ciprinidi e molluschi bivalvi. Questi ultimi albergano solitamente il parassita nel pericardio, nelle gonadi e nei reni. In questi siti oltre ad avvenire la riproduzione del parassita, avviene anche il rilascio delle uova e la loro schiusa, dalla quale fuoriesce una larva non ciliata a sviluppo diretto e senza metamorfosi. Numerosi studi ipotizzano che nel ciclo vitale del parassita i pesci possano fungere da ospite facoltativo, cibandosi di molluschi infetti. Mentre le segnalazioni in Europa (Austria, Slovacchia, Russia) sono numerose sia per quanto riguarda gli ospiti, che per le località di ritrovamento, quelle in Italia sono molto scarse. Durante il 2009 si è condotta un'indagine parassitologica volta a rilevare la presenza di endoparassiti in pesci catturati tramite reti da posta sul Lago Maggiore, nelle provincie di Novara e di Verbano-Cusio-Ossola. Sono stati campionati 136 esemplari appartenenti a 10 differenti specie (*Alosa fallax*, *Carassius carassius*, *Coregonus lavaretus*, *Lota lota*, *Perca fluviatilis*, *Rutilus pigus*, *Rutilus rutilus*, *Salmo trutta lacustris*, *Squalius cephalus*, *Tinca tinca*) e 5 diverse famiglie (Clupeidae, Cyprinidae, Lotidae, Percidae e Salmonidae). I soggetti prelevati sono stati trasportati in contenitori refrigerati nel laboratorio dell'IZS-PLVA nel quale si è proceduto all'esame parassitologico. I parassiti sono stati isolati e fissati in alcool 70° e formalina tamponata al 10% per permettere l'identificazione morfologica. Alcuni esemplari sono stati sottoposti a colorazione con carminio acetico di Semichon ed altri processati per l'analisi al microscopio elettronico a scansione (SEM). La presenza del trematode *Aspidogaster limacoides* è stata registrata solo nell'unico esemplare di *Rutilus pigus* campionato. Lo screening del muco intestinale ha rivelato un'intensità di infestazione massiva (>200 parassiti) e la localizzazione era principalmente nel tratto finale in prossimità dell'ano. I parassiti, dal caratteristico colore giallo-arancio, erano ben visibili ad occhio nudo (circa 1,5 mm).

Da quanto detto in precedenza, essendo il ciclo biologico di questo parassita di tipo diretto, la positività di *R. pigus* può essere probabilmente ascritta all'assunzione alimentare di molluschi bivalvi infetti.

Il presente ritrovamento ha evidenziato la scarsità di informazioni nel nostro paese riguardanti questa tipologia di parassiti e, per questo motivo, si ritiene importante segnalare la sua presenza sul territorio nazionale. Probabilmente la presenza di questo parassita è conosciuta da anni in Italia, ma dalla bibliografia in nostro possesso non è stato possibile risalire ad alcuna segnalazione e quindi questo studio rappresenterebbe il primo report ufficiale sulla presenza di *A. limacoides* in Italia.

## OSSERVAZIONI SULLA DIFFUSIONE DI *ANISAKIS* SPP. IN PRODOTTI ITTICI PROVENIENTI DALLE COSTE SICILIANE

Costa A., Palumbo P., Macrì D., Sciortino S.

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Palermo*

Negli ultimi anni l'applicazione di metodi molecolari tra cui, più di recente, la PCR-RFLP, ha permesso di dimostrare che, nell'ambito delle forme larvali di nematodi della famiglia Anisakidae appartenenti al genere *Anisakis*, vengono riconosciute sei specie distinte, *A. simplex* s. str., *A. pegreffii*, *A. simplex* C, *A. typica*, *A. ziphidarum* e *A. sp. A* e tre specie *A. physeteris*, *A. brevispiculata* e *A. paggiae*, riconducibili rispettivamente ai due tipi morfologicamente differenziabili, Tipo I e Tipo II (*sensu* Berland 1961). Queste specie sono caratterizzate da differente distribuzione geografica, ciclo biologico e preferenza per l'ospite (diverse famiglie di cetacei). Scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare, utilizzando la PCR-RFLP e le chiavi di lettura indicate in bibliografia, la diffusione di forme larvali di *Anisakis* spp in prodotti della pesca provenienti dalle coste siciliane. Un totale di 180 larve di *Anisakis*, isolate da 12 specie di teleostei e da una specie di molluschi cefalopodi dal 2007 al 2009, sono state identificate morfologicamente a livello di genere al microscopio ottico (fissate con alcool etilico 70% e chiarificate con lattofenolo) come stadio larvale L3, differenziandole in Tipo I e Tipo II. Dopo l'estrazione del DNA, la regione genomica del rDNA, comprendente le regioni ITS-1, 5.8S e ITS-2, è stata sottoposta a PCR usando due primers (Zhu et al 1998 Int J Parasitol 28: 1911-1921); il frammento amplificato (~ 1 kb) è stato sottoposto a restrizione enzimatica con i tre enzimi (*Hha*I, *Hinf* I, *Taq* I) indicati in bibliografia per l'identificazione di *Anisakis* spp. (D'Amelio S. et al., 2000, Int. J. Parasitol., 30: 223-226). I profili di digestione ottenuti hanno permesso di identificare le forme larvali di Tipo I come *A. pegreffii* (92,8%) e *A. simplex* s. str. (1,7%) e le larve di Tipo II come *A. physeteris* (5,5%). Nelle specie ittiche *Lepidopus caudatus*, *Trachurus mediterraneus*, *Micromesistius poutassou*, *Engraulis encrasicolus*, *Sardina pilchardus*, *Zeus faber* e *Molva dypterygia* le larve isolate sono state identificate come *A. pegreffii* (100%). Larve di *A. simplex* s. str. sono state identificate solo in *Scomber scombrus* (9,4%) oltre ad *A. pegreffii* (90,6%). Riguardo ad *A. physeteris*, questa specie è stata identificata in *Trachurus trachurus* (3,6%) e *Merluccius merluccius* (13%). La metodica biomolecolare ha identificato inoltre come *A. physeteris* le larve isolate da un campione di *Phycis phycis*, di *Brama brama* e da due campioni di *Todaropsis eblanae* ed inoltre una larva isolata da un esemplare di *Electrona rissoi*, specie ittica abissale comune nel mar Mediterraneo e proveniente dalle coste del Messinese, non riportata in letteratura come ospite intermedio e/o paratenico di *Anisakis*. Tutte le forme larvali identificate come *A. physeteris* erano state isolate da prodotti ittici provenienti dal Mar Ionio. Le prevalenze delle specie di *Anisakis* spp. identificate nella nostra zona si avvicinano a quelle riportate da vari autori. Diversi lavori mostrano che *A. pegreffii* è la specie di *Anisakis* spp. dominante nel Mar Mediterraneo. *A. simplex* s. str. è riconosciuta come la specie prevalente nel Nord est Atlantico; dati recenti, confermati da marcatori genetici, ne mostrano l'isolamento, a seguito di migrazione di specie ittiche pelagiche, anche nel Mar Mediterraneo (ovest) e lungo le coste della Tunisia, in particolare in *S. scombrus*. *A. physeteris* riconosce come ospiti intermedi teleostei e molluschi cefalopodi e come ospite definitivo il capodoglio (*Physeter catodon*). Riteniamo interessante continuare questo studio allo scopo di fornire anche un contributo a studi epidemiologici sulla diffusione di *Anisakis* spp. tenuto conto inoltre della posizione della Sicilia al centro del Mar Mediterraneo.

## ESPOSIZIONE A NONILFENOLO DI GIOVANILI DI TINCA (*TINCA TINCA*, LINNAEUS 1758): RILIEVI ISTOLOGICI E DETERMINAZIONE DEI LIVELLI TIROIDEI

Zaccaroni A.<sup>1</sup>, Sirri R.<sup>1</sup>, Mordenti O.<sup>2</sup>, Parmeggiani A.<sup>2</sup>, Mandrioli L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale;* <sup>2</sup>*Dipartimento Morfo-Fisiologia degli Animali Domestici, Facoltà Medicina Veterinaria, Università di Bologna, Italia*

La presenza di contaminanti ambientali nelle acque dolci può comportare gravi alterazioni dello sviluppo larvale in specie ittiche pregiate come la tinca (*Tinca tinca*, Linnaeus 1758), comportando un danno sia dal punto di vista economico che degli aspetti alieutici e di conservazione. Tra questi contaminanti uno dei più comuni è il nonilfenolo (NP). Nonostante sia noto per la sua azione estrogeno-simile, recentemente sono stati dimostrati i suoi effetti anche a livello tiroideo, consolidando il suo inserimento tra gli interferenti endocrini.

Il presente studio è stato finalizzato alla ricerca di alterazioni istologiche in tiroide, gonadi e fegato e degli ormoni tiroidei in giovanili di tinca a seguito di esposizione in acqua per 45 giorni a 25 e 100 µg/l NP. Ai gruppi trattati sono stati aggiunti un gruppo di controllo negativo (solvente etanolo) e uno di controllo positivo (propiltiouracile). Venticinque esemplari per gruppo sono stati prelevati ad intervalli di 15 giorni per le valutazioni istologiche e le analisi tossicologiche (rispettivamente 10 e 15 esemplari/gruppo). Al termine del periodo di esposizione, gli esemplari rimasti sono stati mantenuti in acqua pulita per ulteriori 15 giorni e quindi sottoposti alle medesime indagini.

Di tre soggetti per gruppo è stata scelta una sezione istologica dalla quale è stato poi valutato un solo campo di tessuto tiroideo faringeo. Al numero totale di follicoli tiroidei presenti nel campo selezionato è stato attribuito un punteggio crescente in base al diametro. Gonadi e fegato sono stati inoltre inclusi nella valutazione istologica e limitatamente al fegato è stato attribuito un punteggio crescente in base alla gravità delle lesioni di tipo degenerativo. I dati ottenuti sono stati valutati statisticamente; l'analisi delle componenti principali è stata applicata ai valori derivati dalle valutazioni istologiche della tiroide.

Le analisi dei livelli di ormoni tiroidei, eseguite su omogenato dell'intero animale, hanno evidenziato in tutti i gruppi un drastico calo dei livelli di T4, più marcato e precoce nel gruppo 100 µg/l NP. Un comportamento analogo è stato evidenziato per i livelli di T3 in tutti i gruppi, anche se il gruppo a più alto dosaggio ha presentato un ritardo del picco ormonale. L'analisi statistica eseguita sui valori ricavati in base al diametro dei follicoli tiroidei ha evidenziato differenze tra i vari trattamenti nel punteggio totale dei follicoli e nel numero di follicoli di piccole dimensioni, più elevato nei gruppi trattati.

Non sono state riscontrate alterazioni istologiche a carico del tessuto gonadico, mentre gli epatociti hanno evidenziato una degenerazione idropica di grado variabile.

Dall'analisi di questi risultati preliminari il NP sembra esercitare un'azione sia sul bilancio degli ormoni tiroidei che sulla dimensione dei follicoli della ghiandola.

## TRACCIABILITÀ DEL PESCATO

Di Bella C., Lo Monaco D., Caracappa C., Priulla V., Tringali L.<sup>1</sup>, Morten E.<sup>2</sup>, Marcianò G.<sup>3</sup>, Graziano R.

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia “A. Mirri” - Area Sorveglianza Epidemiologica; <sup>1</sup>Associazione Scientifico Culturale “Ketos” Catania; <sup>2</sup>Softeco Sismat S.p.A Genova; <sup>3</sup>Ufficio Politiche Comunitarie - Provincia Regionale di Catania*

Il progetto “**Tracciabilità del pescato**”, (finanziato nell’ambito del P.O.R. Sicilia 2000-2006 Asse 4- misura 4.17, sottomisura a) nasce con l’obiettivo di mettere a punto una procedura di tracciabilità di una flotta di pescherecci dediti alla pesca artigianale della “masculina da magghia”. La masculina da magghia è il nome dialettale dell’acciuga (*Engraulis encrasicolus*) pescata con rete menaide nel golfo di Catania.

La cattura avviene facendo uso delle tratte (nome locale per indicare le reti menaidi), tecnica che prevede l’imprigionamento della testa dell’alice nelle maglie della rete, da cui il nome “da magghia”; tale imprigionamento causa un dissanguamento naturale che rende il pesce più gustoso e pregiato. Queste particolari caratteristiche hanno fatto sì che la “masculina da magghia” sia stata riconosciuta come presidio slowfood.

Il risultato finale è stata la creazione di una filiera certificabile, capace di assicurare la tracciabilità, dal momento della cattura in mare fino alla distribuzione nei punti vendita di questo particolare prodotto della pesca. Lo sviluppo della linea progettuale, con l’impiego di 10 imbarcazioni, ha permesso la realizzazione della fase sperimentale fino al confezionamento della “masculina da magghia”.

La sfida del progetto è stata quella di poter identificare in maniera univoca la zona di pesca e certificare che le operazioni si svolgessero all’interno dell’areale identificato con a nord Capo Mulini (coordinate GIS: lat 37,573824 long 15,174008) ed a sud Capo Campolato (coordinate GIS: latitudine 37,292880, longitudine 15,205688).

Uno dei punti cardine del sistema di tracciabilità della masculina da magghia, è il software che gestisce le varie operazioni. Componenti principali del sistema informatico, sono rappresentati dai palmari in banchina, dai moduli GPS installati sulle imbarcazioni, dal server che raccoglie tutte le informazioni e le elabora. Il sistema, sfruttando queste informazioni, stampa le etichette e gli operatori di banchina, al rientro delle imbarcazioni in porto, provvedono ad etichettare le cassette di pesce, opportunamente imballate in reti di plastica con etichette preparate precedentemente, ed a seguire le operazioni di confezionamento ed apposizione del piombino di sicurezza, garantendo così l’integrità delle cassette durante i vari passaggi commerciali. Al consumatore, quindi, giungerà un prodotto di sicura provenienza che, in questo caso, garantisce una cattura particolare in grado di esaltare il meglio delle qualità sensoriali dell’acciuga.

# **INDICE**

# **AUTORI**

ABELLI L.	31	CAVINA R.	46
ACETO S.	45	CECCARELLI G.	31
AGNETTI F.	35	CENTODUCATI G.	50
AGONIGI R.	25	CERVELLIONE F.	24, 25, 30
ALBORALI G.L.	30	CIULLI S.	26, 28, 43
ALIO V.	49	CORRARATI B.	29
ANZALONE L.	33, 34	COSTA A.	49, 54
ARCANGELI G.	10	CROTTI S.	37
ARSIENI P.	53	CULURGIONI J.	38, 47
BATTISTINI R.	51	D'AVINO N.	35
BENNATI L.	41	DE CARLO E.	50
BERALDO P.	13	DE DOMENICO E.	48
BERTONI F.	31	DELLA ROCCA G.	32
BIAGETTI M.	35	DE METRIO G.	36
BIGNAMI G.	28	DE MONTIS A.	35
BONFIGLIO R.	39	DE MURTAS R.	38, 47
BOSCOLO PALO D.	43	DE VICO G.	45
BOSSÙ T.	50	DI BELLA C.	56
BOVO G.	10, 27	DI NOTO A.M.	49
BOZZETTA E.	50	DI RAIMO E.	22, 37
BRONCHINI S.	41	DI SALVO A.	32
BRUNETTI A.	31	ERCOLINI C.	50, 51
BULFON C.	31	FAGIOLI P.	26
CAFFARA M.	36, 44, 46	FERLAZZO M.	48
CAGGIANO M.	36	FIGUS V.	38, 47
CAMPANA M.	36	FIORAVANTI M.L.	36, 37, 40, 44, 46, 50
CAPOVILLA P.	40	FIORETTO B.	40
CAPPELLOZZA E.	27	FLORIO D.	36, 40
CARACAPPA C.	56	FUSARO A.	27
CARELLA F.	45	GAGLIO G.	39, 48
CARI R.	33	GALEOTTI M.	31
CARISTINA G.	52	GHITTINO C.	15, 22, 33, 34, 35, 37, 50
CASTIGLIONE F.	50	GIORGI I.	46, 50, 51
CATTOLI G.	27	GIORGIANNI P.	52

GIOVANNINI S.	30	NICOLETTI M.	41
GRAZIANO R.	56	OTTAVIANI D.	33
GRODZKI M.	26, 28, 43	PACCIARINI M.L.	35
GUANDALINI E.	41	PALADINI G.	53
GUSTINELLI A.	36, 37, 40, 44, 46	PALUMBO P.	54
LANTERI G.	39	PANZARIN V.	27
LATINI M.	33	PARMEGGIANI A.	55
LAURÀ R.	40	PAVOLETTI E.	53
LO MONACO D.	56	PERILLO A.	52
LO VAGLIO G.	37	PERINI F.	25
LUZZANA U.	24, 25	POLI B.M.	18
MACRÌ B.	39	POTENZIANI S.	33
MACRÌ D.	54	PREARO M.	46, 50, 51, 53
MACRÌ F.	52	PRIULLA V.	56
MAGNABOSCO C.	29	QUAGLIO F.	36, 40, 44
MAIOLINO P.	45	RAMPAZZO E.	27
MALATESTA D.	31	RIGHETTI M.	50, 53
MALVISI J.	32	ROGATO F.	24, 25, 33
MANDRIOLI L.	55	ROMANO N.	31
MANFRIN A.	10, 17, 29, 50	ROSSINI I.	51
MANGANARO M.	39	ROSTEGHIN M.	29
MANUALI E.	35	RUBINI S.	50
MARCHETTI T.	37	RUSSO ALESÌ E.M.	49
MARCIANÒ G.	56	SALATI F.	50
MARINO G.	16	SALOGNI C.	30
MARINO F.	20, 39, 40, 48, 52	SALVADOR P.	9
MASINI L.	33, 49	SALVAGIANI P.	44
MAZZONE P.	35	SARTI M.	24
MINARDI D.	50, 53	SCIORTINO S.	54
MONNE I.	27	SERRACCA L.	50, 51
MORAVEC F.	48	SERRATORE P.	28
MORDENTI O.	55	SERVA D.	37
MORTEN E.	56	SIRRI R.	55
MOSCA F.	31	SOLA D.	35
MUTINELLI F.	19	TIBALDI E.	12

TISCAR P.G.	31
TRINGALI L.	56
TOFFAN A.	27
VOLPATTI D.	31
VOLPE E.	43
ZACCARONI A.	55
ZAMBON M.	29
ZANONI M.	30
ZIZZO N.	48