Atti del XIV Convegno Nazionale della Società Italiana di Patologia Ittica

S.I.P.I.

15-16 novembre 2007

Castiglione della Pescaia (GR)

Società Ittica "Il Padule"

ATTI DEL

XIV CONVEGNO NAZIONALE S.I.P.I.

Società Italiana di Patologia Ittica

15-16 novembre 2007

Castiglione della Pescaia (GR)

Sponsor del XIV Convegno S.I.P.I.

Piscicolture FORNACIARI
Azienda Ittica IL PADULE

PROGRAMMA

XIV CONVEGNO NAZIONALE S.I.P.I.
Società Italiana di Patologia Ittica

15-16 novembre 2007
Castiglione della Pescaia (GR)
Sala Convegni Società Ittica "Il Padule"

GIOVEDÌ 15 NOVEMBRE 2007
SESSIONE MATTUTINA

ORE 08.30-09.30 REGISTRAZIONE DEI PARTECIPANTI ED ISCRIZIONE AL CONVEGNO

ORE 09.30-10.00 APERTURA DEI LAVORI
SALUTI DI BENVENUTO DEL SIG. ARGO FORNACIARI
SALUTO DELLE AUTORITÀ
Saluto del Presidente della S.I.P.I.

Ore 10.00-11.00 **COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE - I SESSIONE**
Moderatore Prof. Francesco QUAGLIO
Facoltà di Medicina Veterinaria – Legnaro (PD)

Ore 10.00-10.15 **Suscettibilità di *Ictalurus melas* nei confronti del virus ECV.**
Gobbo F., Borghesan F., Cappellozza E., Quartesan R., Bovo G.

Ore 10.15-10.30 **Prime esperienze di vaccinazione intraperitoneale contro *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* in salmerino alpino (*Salvelinus alpinus*).**
Manfrin A., Fasolato L., Rosteghin M., Lunelli F., Merlo N., Arcangeli G., Bovo G.

Ore 10.30-10.45 **Infezione da cocchi Gram positivi in *Acipenser baeri* d'allevamento in Pianura Padana: studio preliminare.**
Salogni C., Cervellione F., Salati F., Zanoni M. Gelmetti D., Alborali L.

Ore 10.45-11.00 **Infezione da *Mycobacterium marinum* in persico spigola (*Morone chrysops x M. saxatilis*) d'allevamento.**
Prearo M., Giorgi I., Pezzolato M., Gasparri F., Audino V., Varello K., Bozzetta E.

Ore 11.00-11.30 **COFFEE BREAK**

Ore 11.30-12.30 **COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE - II SESSIONE**
Moderatore Dott.ssa Teresa BOSSU'
Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana - Roma

Ore 11.30-11.45 **Granuloma d'acquario: un esempio di sinergismo diagnostico tra medici e veterinari pubblici.**
Agnetti F., Cari R., Prearo M., Boncio L., Papini M., Ghittino C.

Ore 11.45-12.00 **Rilievi istopatologici in corso di infezione spontanea da *Enteromyxum leei* in sarago pizzuto.**
Beraldo P., Volpatti D., Contessi B., Bulfon C., Basile F., Fioravanti M.L., Galeotti M.

Ore 12.00-12.15 **Rischi sanitari legati al ripopolamento delle acque interne: triaenoforosi e cistidicolosi.**
Gustinelli A., Grund H., Pircher A., Stifter E. Quaglio F., Fioravanti M.L.

Ore 12-15-12.30 **Utilizzo integrato di parametri immunitari nel monitoraggio di mitili (*Mytilus galloprovincialis*, Lmk 1819) allevati presso il Lago di Paola (Sabaudia, Latina).**
Mosca F., Lanni L., Bianco I., Cargini D., Narcisi V., Calzetta A., Tiscar P.G.

Ore 12.30-13.00 **SESSIONE POSTER**
Moderatore Prof. Pietro Giorgio TISCAR
Università degli Studi di Teramo – Facoltà di Medicina Veterinaria

P1 **Monitoraggio sanitario in troticolture della Regione Piemonte: valutazione della diffusione di S.E.V. e N.E.I. nel quinquennio 2003-2007.**
Prearo M., Arsieni P., Giordana G., Giorgi I., Moda G., Vignetta P.

P2 **Identificazione di *Photobacterium damselae* tramite PCR. Indagine preliminare.**
Rosteghin M., Manfrin A., Fasolato L., Corrain C., Arcangeli G., Bovo G., Prearo M.

P3 **Genotipizzazione tramite RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) di ceppi di *Lactococcus garvieae* isolati in Italia.**
Fasolato L., Corrain C., Manfrin A., Rosteghin M., Andrighetto C., Arcangeli G., Bovo G., Prearo M.

P4 **Antibiotico-resistenza in ceppi di *Lactococcus garvieae* isolati da Salmonidi nel periodo 1994-2005: risultati preliminari.**
Pennelli D., Salogni C., Tagliabue S., Alborali L.

P5 **Presenza di micobatteri atipici in una popolazione selvatica di siluri (*Silurus glanis*) pescati nel tratto alessandrino del fiume Po.**
Giorgi I., Pascale M., Guarise S., Abete M.C., Forneris G., Prearo M.

P6 **Ricerca di micobatteriosi atipiche in rane (*Rana esculenta*) di cattura provenienti dall'Albania.**
Prearo M., Rossi F., Zoppi S., Giorgi I., Abete M.C., Giaccone V., Zanoni R.G.

P7 **Episodio di enteromyxosi in saraghi pizzuti (*Diplodus puntazzo*) allevati in gabbie galleggianti in Italia.**
Caffara M., Florio D., Basile F., Gustinelli A., Marcer F., Beraldo P., Volpatti D., Brizzi G., Cascone V., Fioravanti M.L., Santamaria F.

P8 **Risposta immunitaria in sarago pizzuto (*Diplodus puntazzo*, Cetti 1777) in corso di infezione da *Enteromyxum leei*.**
Volpatti D., Contessi B., Beraldo P., Bulfon C., Basile F., Fioravanti M.L., Galeotti M.

P9 **Infestazione da *Gyrodactylus turnbulli* in guppy (*Poecilia reticulata*) d'allevamento**
Salogni C., Aquaro G., Galli P., Gelmetti D., Alborali L.

P10 **Parassitofauna di siluro europeo (*Silurus glanis*) del fiume Po.**
Gustinelli A., Gaglio G., Paladini G., Fioravanti M.L., Guarise S., Prearo M.

P11 **Valutazione degli effetti indotti da diete a diverso tenore di selenio sugli enzimi antiossidanti e sull'accrescimento di giovani di gambero rosso americano (*Procambarus clarkii*).**
Dörr A.J.M., Pacini N., La Porta G., Taticchi M.I., Elia A.C., Natali M., Abete M.C., Prearo M.

P12 **Rilevamento di sostanze contaminanti in episodi di mortalità in allevamenti ittici, mediante l'utilizzo del saggio di tossicità acuta con *Vibrio fischeri*.**
Abete M.C., Scalas D., Bottalico A., Gramaglia M., Squadrone S., Rogato F., Prearo M.

Ore 13.00-14.30 **Pausa Pranzo**

GIOVEDÌ 15 NOVEMBRE 2007
SESSIONE POMERIDIANA

INCONTRO SCIENTIFICO S.I.P.I.

ORGANIZZATO IN COLLABORAZIONE CON

ASSOCIAZIONE PISCICOLTORI ITALIANI

"AGGIORNAMENTI IN ITTIOPATOLOGIA ALLA LUCE DEI RECENTI INCONTRI INTERNAZIONALI"

ORE 14.30-15.00 SALUTO DELLE AUTORITÀ
SALUTO DEL PRESIDENTE A.P.I.
SALUTO DEL PRESIDENTE S.I.P.I.

MODERATORI:

DOTT. MARINO PREARO
ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DEL PIEMONTE, LIGURIA E VALLE D'AOSTA - TORINO
DOTT. FABIO ROGATO
SKRETTING ITALIA – HENDRIX S.P.A. – MOZZECANE (VR)

ORE 15.00-15.20 "**ATTUALI INDIRIZZI DELLA RICERCA SCIENTIFICA RELATIVAMENTE ALLE PATOLOGIE VIRALI PRESENTI IN ACQUACOLTURA**"
Dott. Giuseppe BOVO
Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie – Legnaro (PD)

ORE 15.20-15.40 "**MALATTIE BATTERICHE EMERGENTI IN ACQUACOLTURA**"
Dr. Amedeo MANFRIN
Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie – Legnaro (PD)

ORE 15.40-16.00 "**AGGIORNAMENTI IN ITTIOPARASSITOLOGIA**"
Prof.ssa Maria Letizia FIORAVANTI
Università degli Studi di Bologna – Facoltà di Medicina Veterinaria di Ozzano Emilia (BO)

ORE 16.00-16.30 *COFFEE BREAK*

ORE 16.30-16.50 "**PATOLOGIA CARDIOVASCOLARE: SINTESI DEL WORKSHOP EAFP 2007 DI ISTOPATOLOGIA**"
Dott.ssa Paola BERALDO
Università degli Studi di Udine – Facoltà di Medicina Veterinaria di Udine

ORE 16.50-17.10 "**AGGIORNAMENTI IN IMMUNOLOGIA E PROFILASSI VACCINALI NELLE SPECIE ITTICHE. SINTESI DEI RISULTATI ESPOSTI ALLA 13° CONFERENZA EAFP DI GRADO**"
DOTT.SSA DONATELLA VOLPATTI
Università degli Studi di Udine – Facoltà di Medicina Veterinaria di Udine

ORE 17.10-17.30 "**TOSSICOLOGIA DEGLI ANIMALI ACQUATICI: CASI STUDIO E PROGETTI DI MONITORAGGIO**"
DOTT.SSA ALESSANDRA PAOLINI
Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise – Teramo

ORE 17.30-17.50 "**ASPETTI PATOLOGICI NEL MOLLUSCHI**"
Prof. Pietro Giorgio TISCAR
Università degli Studi di Teramo – Facoltà di Medicina Veterinaria di Teramo

ORE 17.50-18.00 "**AGGIORNAMENTI SULL'IMPATTO DELLA PERKINSOSI SULLA MOLLUSCHICOLTURA EUROPEA**"
Dott. Giuseppe CESCHIA
Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie – Basaldella di Campoformido (UD)

ORE 18.00-18.10 "**SANITÀ IN ACQUACOLTURA: UN IMPEGNO PER L'API**"
Dott. Stefano BRONCHINI
Associazioni Piscicoltori Italiani – Verona

ORE 18.10-18.30 **DISCUSSIONE GUIDATA SUGLI ARGOMENTI TRATTATI**

ORE 21.00 ***CENA SOCIALE***

VENERDÌ 16 NOVEMBRE 2007

Ore 09.00-10.30 **Assemblea dei Soci**

PREMIAZIONE TESI – Proclamazione del vincitore del premio S.I.P.I. per la miglior tesi su argomenti di Ittiopatologia
Dott. Marino PREARO
Responsabile scientifico di "ITTIOPATOLOGIA"

Ore 10.30-11.00 **ELEZIONI DEL CONSIGLIO DIRETTIVO S.I.P.I.**

Ore 11.00-12.30 **Spoglio schede elettorali**

VISITA GUIDATA PRESSO L'AZIENDA ITTICA "IL PADULE"

Ore 12.30-12.45 **COMUNICAZIONE RISULTATI ELEZIONI**
SALUTO FINALE DEL PRESIDENTE USCENTE S.I.P.I.

ABSTRACT

Comunicazioni orali

SUSCETTIBILITA' DI *ICTALURUS MELAS* NEI CONFRONTI DEL VIRUS ECV

Gobbo F., Borghesan F., Cappellozza E., Quartesan R., Bovo G.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Viale dell'Università, 10 - 35020 Legnaro (PD)

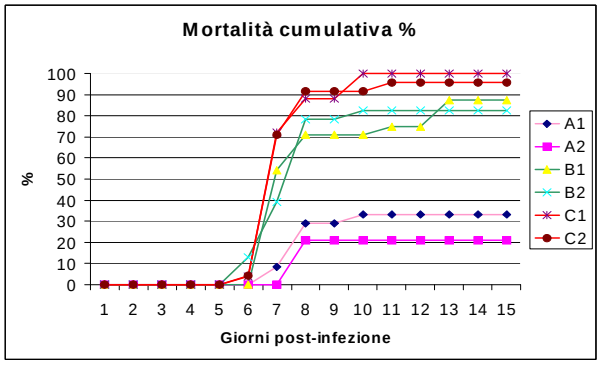
Nell'ambito del progetto di ricerca UE RANA (Risk assessment of new and emerging systemic iridoviral diseases for European fish and aquatic ecosystems) è prevista l'esecuzione, presso i laboratori partners del progetto, di una serie di infezioni sperimentali, con l'utilizzo di dodici agenti virali, rappresentativi delle diverse specie di *Ranavirus* riportate in letteratura, al fine di valutare il rischio che tali agenti, in alcuni casi ancora poco caratterizzati, rappresentano nei confronti di alcune tra le principali specie ittiche d'allevamento, tra cui il salmone atlantico, la trota iridea, il persico, il lucioperca, il luccio, l'anguilla europea, la carpa, il pesce rosso, il branzino, l'orata, il pesce gatto comune ed il siluro.
In questo lavoro sono descritti i risultati osservati nel corso dell'infezione di giovani soggetti di *Ictalurus melas* indotta mediante esposizione al virus ECV (*European catfish virus*) .
L'infezione è stata eseguita tramite immersione prolungata degli animali, per 60 minuti, in una sospensione virale, con titolo 10^4 $DICT_{50}$ /ml, con il ceppo 24/2006, al quarto passaggio su cellule EPC, post isolamento da soggetti sintomatici, prelevati nel corso di un focolaio di malattia naturale.
La prova è stata condotta contemporaneamente alle temperature di 15°C e 25°C, utilizzando, per ciascuna temperatura, 60 soggetti con peso medio di 10,5 grammi.
Post infezione ogni gruppo è stato suddiviso in due sottogruppi di 30 animali, stabulati in vasche di circa 50 litri, alimentate con acqua di acquedotto declorata e termostatata alle temperature selezionate. Oltre ai soggetti infettati, sono stati inseriti due gruppi controllo, per ognuna delle due temperature previste .
I primi segni clinici, rappresentati da nuoto a spirale, nuoto superficiale, atteggiamento a candela e lesioni emorragiche a carico di cute e pinne, sono stati osservati nel gruppo mantenuto a 25°C che, al termine dei 30 giorni post infezione , ha manifestato una mortalità cumulata pari a 80,6%.
La mortalità cumulata nel gruppo stabulato a 15°C è risultata pari al 82,5%, con un tempo di incubazione doppio rispetto al gruppo stabulato a 25°C. Occorre comunque sottolineare che nei gruppi mantenuti a 15°C, è comparsa un'infezione polimicrobica che ha colpito non solo i soggetti infettati ma anche il gruppo controllo e che ha richiesto un trattamento antibiotico di 6 giorni. La concomitante infezione batterica ha complicato il quadro clinico dei gruppi infettati a 15°C e reso difficile l'interpretazione dei risultati. Cionondimeno è stata osservata una differenza significativa tra il gruppo infettato ed il gruppo controllo.
I risultati ottenuti evidenziano che il virus ECV può rappresentare un grave rischio biologico nei confronti della specie *Ictalurus melas* in cui è in grado di causare mortalità significative. La patogenicità di ECV riscontrata, nei confronti di *Ictalurus melas*, in condizioni sperimentali controllate , conferma il ruolo primario del virus nel corso delle infezioni naturali, spesso associate alla presenza di agenti batterici, prevalentemente appartenenti al genere *Aeromonas* .

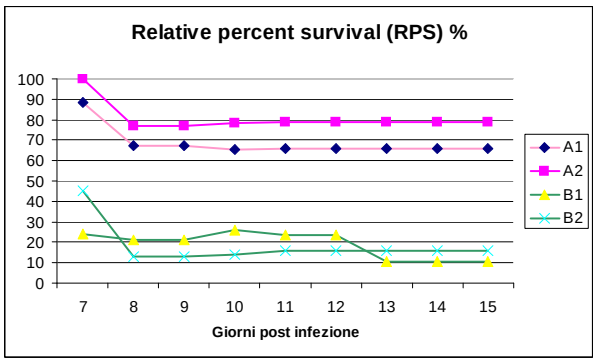
PRIME ESPERIENZE DI VACCINAZIONE INTRAPERITONEALE CONTRO *AEROMONAS SALMONICIDA SUBSP. SALMONICIDA* IN SALMERINO ALPINO (*SALVELINUS ALPINUS*).

Manfrin A.[1], Fasolato L.[1], Rosteghin M.[1], Lunelli F.[2], Merlo N.[2], Arcangeli G.[1], Bovo G.[1]

[1]*Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie – Laboratorio di Adria (RO) e Legnaro (PD).* [2]*Istituto Agrario San Michele all'Adige (TN).*

Il salmerino alpino (S*alvelinus alpinus*) è una specie molto pregiata e particolarmente sensibile alle infezioni da *Aeromonas salmonicida*. Nel presente studio si è voluto testare un vaccino stabulogeno, ottenuto con un ceppo di *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* isolato durante un episodio di malattia da salmerini alpini stabulati presso l'impianto ittico dell'Istituto Agrario di S. Michele all'Adige (TN), somministrato per via intraperitoneale. Durante la prima fase della sperimentazione è stata definita la patogenicità del ceppo isolato, al fine di rilevare una DL>70 e stabilire la durata del successivo periodo di studio. Dalla bibliografia, infatti, risulta che la DL per *Aeromonas salmonicida* è stata individuata in differenti specie di salmonidi, ma è spesso molto variabile in funzione del ceppo batterico, della specie ittica e delle caratteristiche ambientali(2). Nel *S. fontinalis* del peso medio di 84 g., la DL_{100} è stata individuata in 10^5 ufc/soggetto, causa l'elevata patogenicità del ceppo in esame(1). Nel nostro caso il pre-challenge è stato effettuato in accordo con il numero statistico di base stabilito da Norqvist e coll.(3), individuando una DL_{90} di 10^2 ufc/pesce per i.p. a 11°C. Sono stati quindi testati due lotti di vaccino: il primo Bacterin (B) (10^9 ufc/ml) e il secondo con l'aggiunta dell'olio vegetale Montanide ISA 763® nel rapporto antigene 30% + adjuvante 70 % (A). Il gruppo di controllo (C) è stato inoculato con PBS alla stessa dose di 0,1 ml/capo. I tre gruppi erano costituiti da 25 soggetti di 1 anno (2 repliche per tesi). L'infezione sperimentale è stata eseguita 65 giorni dopo la vaccinazione (vedi grafici della mortalità e della *relative percent survival* = RPS).





C = controllo; B= vaccino bacterin; A= vaccino con Adjuvante

La stabilizzazione della RPS si è osservata a partire dall'ottavo giorno post infezione, evidenziando i migliori tassi di sopravvivenza, compresi tra 66 e 78%, nel gruppo A. A seguito di tale risultato, il vaccino adjuvato è stato scelto per un test pilota di campo, in coabitazione con soggetti non vaccinati, iniziato il 4/5/2007. Per tale prova sono stati vaccinati 140 esemplari di circa 600 g., mentre il gruppo di controllo, di pari numerosità, è stato marcato elettronicamente.

(1) Fernandez A.I.G., Perez M.J., Rodriguez L.A. & Nieto T.P. (1995). Surface phenotypic characteristics and virulence of Spanish isolates of *Aeromonas salmonicida* after passage through fish. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61, 5: 2010-2012.
(2) Nordmo R. (1997) Strengths and weaknesses of different challenge methods. *In: Fish Vaccinology. Gudding R., Lillehaug A., Midtlyng P.J., Brown (eds). Dev. Biol. Stand. Basel, Karger*, 90: 303-309.
(3) Norqvist A., Hagstrom A. & Wolf-Watz H. (1989). Protection of rainbow trout against Vibriosis and Furunculosis by the use of attenuated strains of *Vibrio anguillarum. Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 6: 1400-1408.

INFEZIONE DA COCCHI GRAM POSITIVI IN *ACIPENSER BAERI* D'ALLEVAMENTO IN PIANURA PADANA: STUDIO PRELIMINARE

Salogni C.[1], Cervellione F.[2], Salati F.[3], Zanoni M.[1], Gelmetti D.[1], Alborali L.[1]

[1]*Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia;* [2] *Skretting Italia. Mozzecane. Verona;* [3]*Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Oristano.*

Nell'estate del 2007 in 2 allevamenti di storioni della pianura padana si sono verificati fenomeni di mortalità in storioni siberiani (*Acipenser baeri*) d'importazione. La patologia ha interessato esemplari di taglia diversa compresa tra i 10 e i 50 cm circa. Le principali manifestazioni cliniche osservate sono state: distensione addominale, modico esoftalmo, anemia e in alcuni soggetti è stato possibile evidenziare emorragie ed ulcerazioni cutanee. Gli episodi sono stati caratterizzati da mortalità a stillicidio che si è verificata soprattutto in occasione di variazioni o dell'aumento stagionale delle tempera dell'acqua. All'esame anatomopatologico sono state osservate: anemia, proliferazione del rene posteriore, essudazione siero-emorragica in cavità addominale, splenomegalia, emorragie epatiche, della sierosa addominale e delle branchie. Sugli esemplari sintomatici sono stati eseguiti esami di laboratorio parassitologici, batteriologici e virologici.
L'esame parassitologico ha evidenziato la presenza di *Trichodina* sp. in un episodio, mentre è risultato negativo nell'altro.
L'esame virologico, eseguito mediante colture cellulari e microscopia elettronica, ha dato esito negativo
Tramite l'esame colturale è stato possibile l'isolamento di cocchi gram positivi da cervello, occhio, rene, fegato e milza nei soggetti analizzati. La tipizzazione di microrganismi, tramite caratterizzazione biochimica in micrometodo (API-STREP) e sequenziamento genomico dell'rRNA 16S, ha consentito l'identificazione di *Streptococcus dysgalactiae* in entrambi gli allevamenti. Ulteriori studi nell'ambito dell'identificazione dei cocchi gram positivi isolati sono attualmente in corso.

INFEZIONE DA *MYCOBACTERIUM MARINUM* IN PERSICO SPIGOLA (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) D'ALLEVAMENTO

Prearo M., Giorgi I., Pezzolato M., Gasparri F.*, Audino V., Varello K., Bozzetta E.

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Via Bologna, 148 – 10154 Torino; * Skretting Italia, Hendrix S.p.A., Fraz. S. Zeno – 37060 Mozzecane (VR)*

Il persico spigola è un ibrido (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) allevato per la produzione di carne; in Italia non ha una raggiunto una particolare diffusione, in quanto non incontra il gusto del consumatore; la commercializzazione segue la via della grande distribuzione. Il novellame viene importato generalmente da Israele e portato a taglia commerciale in bacini di acqua calda. Le specie che danno vita all'ibrido sono oggetto di studi sia tossicologici che di natura patologica: numerose sono le segnalazioni di infezioni da micobatteri in soggetti selvatici o di allevamento, sia in Israele che negli Stati Uniti (California; Chesapeake Bay, Maryland). Molte specie di germi acido-alcool resistenti sono coinvolte negli episodi di infezione del persico spigola, tra le quali *Mycobacterium marinum*, *M. shottii*, *M. pseudoshottii*.
Scopo del presente lavoro è di segnalare un episodio di infezione da *M. marinum* in esemplari di persico spigola allevati sul territorio nazionale.
Durante il mese di maggio 2007 sono giunti al laboratorio di Ittiopatologia di Torino porzioni di branchie fissate in formalina di persico spigola provenienti da un allevamento dell'Italia settentrionale: l'anamnesi raccolta dal prelevatore indicava come le lamelle branchiali fossero infarcite da incrostazioni brunastre. L'esame istologico dei preparati colorati con Ematossilina-Eosina (EE), ha evidenziato numerosi granulomi a livello delle lamelle branchiali, con presenza di numerosi batteri acido-alcool resistenti. Successivamente, nel mese di luglio, sono stati campionati dallo stesso lotto di allevamento alcuni soggetti per poter procedere ad ulteriori indagini anatomopatologiche e colturali; i pesci giunti in laboratorio si presentavano in buono stato generale, con presenza in alcuni di essi di lesioni ulcerative a livello della cute nella parte caudale del corpo e all'inserzione delle pinne. Le branchie si presentavano ricoperte da muco giallastro ed erano presenti degli ingrossamenti rossastri a livello delle lamelle branchiali. All'apertura della cavità addominale, si è potuto osservare splenomegalia e presenza di noduli miliari a livello epatico, renale e splenico. Porzioni di fegato, rene, milza, branchie e muscolo sono stati in parte fissati in formalina ed incluse in paraffina per le indagine istologiche ed immunoistochimiche con anticorpo policlonale anti-*Mycobacterium bovis*, in parte soggette ad esame parassitologico, virologico, colturale di primo isolamento su Agar sangue e per micobatteri. Gli organi sono stati omogenati, decontaminati con HPC, centrifugati e seminati su terreni specifici (Löwenstein-Jensen e Stonebrink). Le colonie isolate sono state identificate fenotipicamente e biochimicamente, secondo quanto riportato nel CDC Manual. L'esame istologico ha confermato la presenza di numerosi granulomi in tutti gli organi campionati, a diverso stadio di sviluppo, costituiti da un'area centrale di materiale amorfo eosinofilico circondato da cellule epitelioidi, linfocitaria e da una sottile capsula connettivale. Nei preparati colorati con Ziehl-Neelsen (ZN) si è potuto osservare la presenza di numerosi germi acido-alcool resistenti all'interno dei granulomi. Si è inoltre verificata positività alla colorazione immunoistochimica.ò su tutti gli organi di tutti i soggetti, ad eccezione del muscolo, sono state isolate colonie fotocromogene di micobatteri (ZN positive), identificate fenotipicamente e biochimicamente come *M. marinum*.
I danni provocati da tale episodio sono risultati difficilmente quantificabili, in quanto la mortalità è risultata estremamente bassa, mentre nella partita interessata si è osservata una minor conversione dell'alimento. Questa segnalazione va ad aggiungersi alle altre effettuate sul territorio nazionale, ampliando il panorama delle micobatteriosi atipiche in pesci d'allevamento.

GRANULOMA D'ACQUARIO: UN ESEMPIO DI SINERGISMO DIAGNOSTICO TRA MEDICI E VETERINARI PUBBLICI

Agnetti F.[1], Cari R.[1], Prearo M.[2], Boncio L.[3], Papini M.[3], Ghittino C.[1]

[1]Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Centro di Riferimento Regionale per l'Ittiopatologia, via Muratori 4 - 05100 Terni; [2]Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle D'Aosta, via Bologna 148 - 10154 Torino; [3]Università di Perugia, Dip. Specialità Medico-Chirurgiche e Sanità Pubblica, Clinica Dermatologica, via T. di Joannuccio - 05100 Terni

Vengono riportati due episodi clinici umani di micobatteriosi in provincia di Terni, contratta da pesci d'acquario infetti. Il primo riguarda un uomo di 35 anni, immunocompetente, proprietario di acquari dulciacquicoli in cui erano mantenuti esemplari appartenenti a specie ittiche diverse (*Carassius auratus*, *Poecilia reticulata*), tutti apparentemente sani. Il paziente, che routinariamente effettuava operazioni di pulizia e gestione degli acquari senza guanti, riferiva la comparsa da circa 3 mesi di una lesione lenticolare, rossa e tumida, al dito indice della mano sinistra, con evoluzione suppurativa. In seguito a visita specialistica privata, la terapia con amoxicillina + acido clavulanico e minociclina per os per 10 gg, dopo incisione e drenaggio della lesione, non ha portato a guarigione; anzi, nuove lesioni con aspetto simile sono cominciate ad apparire lungo il decorso dei vasi linfatici, limitatamente alle regioni degli arti superiori. La terapia era stata prescritta senza l'esecuzione di esami batteriologici mirati (tampone cutaneo) e/o esami istologici (biopsia). Il secondo caso riguarda un uomo di 28 anni, anch'esso immunocompetente e proprietario di un acquario dulciacquicolo in cui erano mantenuti esemplari di *C. auratus* apparentemente sani. Anche in questo caso, il paziente si occupava in prima persona della gestione dei pesci e riferiva la comparsa, da circa 2 mesi, di lesioni sopraelevate rosse e tumide sul dorso delle mani e sulla superficie ventrale degli avambracci. Ad una prima visita specialistica, effettuata a circa un mese dalla comparsa delle lesioni, veniva prescritta al paziente una terapia a base di gentamicina + betametasone per uso topico, associata ad amoxicillina + acido clavulanico per os, per 7 gg. Presso la struttura ospedaliera, dai suddetti pazienti sono state effettuate biopsie cutanee, partendo dalle sedi di lesione; tali campioni sono stati sottoposti sia ad esame istologico, previa colorazione di Ziehl-Neelsen, che ad esame colturale per l'isolamento di batteri acido-alcool resistenti Per il primo caso, inoltre, è stato possibile prelevare alcuni esemplari di pesci, nonché il filtro dell'acquario, che sono stati sottoposti ad analisi presso il Laboratorio di Ittiopatologia; all'uopo, sono stati allestiti esami colturali per l'isolamento di batteri acido-alcool resistenti. Le colonie ottenute sono state poi sottoposte a caratterizzazione biochimica e molecolare (PCR). L'esame istologico condotto sui frammenti bioptici ha evidenziato un quadro di flogosi cronica aspecifica a livello dello strato dermico. Gli esami colturali allestiti dai campioni bioptici, dai pesci e dal filtro degli acquari del primo paziente, hanno permesso di isolare colonie ascrivibili al genere *Mycobacterium*, successivamente identificate come *M. marinum*. Le colonie isolate invece dai campioni bioptici prelevati dal secondo paziente sono state identificate come *M. chelonae*. Entrambi i pazienti sono stati sottoposti a terapia con claritromicina (1g/die per 5 mesi), fino a completa guarigione delle lesioni. Parallelamente, è stato raccomandato il risanamento degli acquari, con eliminazione dei pesci infetti, svuotamento delle vasche, loro disinfezione con ipoclorito di sodio e rispetto di un periodo di vuoto sanitario di 3 settimane. Questi episodi di micobatteriosi dei pesci ornamentali e parallelo sviluppo di granulomi d'acquario nell'uomo, testimoniano la necessità di un sinergismo d'azione tra medici e veterinari pubblici, sia nel reperire informazioni anamnestiche, sia nel procedere ad un iter diagnostico/terapeutico mirato, sia nel promuovere un'adeguata informazione sanitaria per prevenire la comparsa di nuovi episodi di questa patologia.

RILIEVI ISTOPATOLOGICI IN CORSO DI INFEZIONE SPONTANEA DA *ENTEROMYXUM LEEI* IN SARAGO PIZZUTO

Beraldo P.[1], Volpatti D.[1], Contessi B.[1], Bulfon C.[1], Basile F.[3], Fioravanti M.L.[2], Galeotti M.[1]

[1]Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Udine. [2]Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Bologna. [3]Maricoltura Mattinatese S.c.a.r.l., Italy

Enteromyum leei è un mixosporidio istozoico, agente eziologico di gravi enteriti parassitarie in diverse specie ittiche marine, evidenziando una scarsa specificità per l'ospite. Negli ultimi anni, questo parassita si è diffuso nel bacino mediterraneo, causando gravi epizoozie in sparidi, in particolare in popolazioni allevate di sarago pizzuto (*Diplodus puntazzo*), determinando una notevolmente contrazione dell'allevamento di questa specie mediterranea, che rappresentava una valida alternativa zootecnica per la diversificazione della produzione in maricoltura. Allo stato attuale, l'elevata patogenicità di questo mixosporidio, abbinata all'assenza di trattamenti, ufficialmente registrati, efficaci per il controllo dell'infezione, potrebbero decretarne l'abbandono produttivo. In quest'ottica, nell'ambito di un progetto volto a studiare i fattori limitanti la produzione del sarago pizzuto, sono stati monitorati episodi di mixidiosi intestinale, con diverse finalità, tra le quali ottenere la descrizione dei quadri anatomopatologici in corso di infezione spontanea da *E. leei*. Per tale scopo, sono stati effettuati 8 campionamenti di sarago: 4 in un allevamento del sud dell'Italia, dall'inizio dell'estate (peso medio 6,5 g), corrispondente alla semina in gabbia galleggiante, fino all'autunno (peso medio 50 g); 4 in un allevamento del nord Italia, da maggio (peso medio 6,5 g) a ottobre dell'anno successivo (peso medio 160 g). Ad ogni campionamento sono stati prelevati 10 pesci, sottoposti a esame necroscopico e, successivamente, al prelievo degli organi viscerali, del rene, del cuore e delle branchie. In particolare dal tratto gastroenterico, isolato dal resto degli organi viscerali, sono stati prelevati la porzione pilorica dello stomaco e tratti dell'intestino corrispondenti al 5, 50 95% della lunghezza totale. I campioni bioptici sono stati fissati in formaldeide tamponata al 4% o, quando possibile, in soluzione di Bouin, con successivi lavaggi in alcol 70°. Ai fini della valutazione istologica, i preparati sono stati colorati con ematossilina-eosina e, alternativamente, caratterizzati istochimicamente tramite le colorazioni di Twort (Gram), Giemsa, PAS (o PAS-alcian blu), tricromica di Masson e Blu di toluidina (al 2,5% per fissati in Bouin). La valutazione istologica, congiuntamente ai risultati dell'esame parassitologico, ha consentito di identificare quattro quadri istopatologici corrispondenti a diverse fasi della malattia parassitaria. 1. **Fase iniziale** dell'infezione, caratterizzata dalla modesta presenza di stadi vegetativi nell'epitelio intestinale, che appare ben conservato con un moderato infiltrato cellulare rappresentato quasi esclusivamente da mastociti (cellule granulari eosinofiliche). 2. **Fase acuta**, corrispondente a una presenza massiva del parassita (prevalentemente stadi sporogonici) soprattutto nel tratto anteriore e medio dell'intestino; i caratteri salienti sono l'atrofia iperigenerativa dei villi intestinali, con lamina propria fortemente infiltrata di linfociti, linfangectasia e edema (quadro riferibile a enterite proliferativa). 3. **Fase cronica**, rappresentata da un'infezione massiva e persistente, contraddistinta da atrofia dei villi intestinali con lamina propria fortemente infiltrata da linfociti (ma anche plasmacellule, macrofagi e mastociti) determinante un sovvertimento totale della morfologia intestinale (quadro riferibile a enterite linfocitaria cronica profonda). 4. **Fase di remissione**, caratterizzata dalla rara presenza di stadi sporogonici del parassita, la mucosa intestinale appare ben conservata, sebbene vi siano ancora aspetti riconducibili a enterite linfocitaria. Altri elementi descrittivi, anche di quadri istolesivi non associati alla presenza del parassita, saranno discussi.

RISCHI SANITARI LEGATI AL RIPOPOLAMENTO DELLE ACQUE INTERNE: TRIAENOFOROSI E CISTIDICOLOSI

Gustinelli A.[1], Grund H.[2], Pircher A.[3], Stifter E.[4], Quaglio F.[5], Fioravanti M.L.[1]

[1]Dip. Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Università di Bologna; [2]Ufficio Caccia e Pesca, Provincia Autonoma di Bolzano; [3]ASL Merano; [4]Servizio Veterinario Provinciale, Bolzano; [5]Dip. Sanità Pubblica, Patologia Comparata e Igiene Veterinaria, Università di Padova

Nel corso del biennio 2005-2006 si è assistito all'introduzione di due specie parassitarie che non risultavano fino ad allora descritte sul territorio nazionale, *Triaenophorus crassus* (Cestoda: Triaenophoridae) e *Cystidicola farionis* (Nematoda: Cystidicolidae) in popolazioni di salmonidi presenti nelle acque pubbliche dell'Alto-Adige.
Per quanto riguarda *T. crassus*, dopo che la sua presenza era stata segnalata nel 2005 in coregoni (*Coregonus* spp.) di un lago della provincia di Bolzano, successive indagini parassitologiche hanno permesso di individuarne la presenza in tutti gli ospiti coinvolti nel suo ciclo biologico: *Esox lucius* quale ospite definitivo, alcune specie di salmonidi (coregoni e *Salmo trutta* m. *fario*) come secondi ospiti intermedi e crostacei copepodi quali primi ospiti intermedi, indicando una stabile colonizzazione del parassita nell'ecosistema in studio.
In riferimento al nematode *C. farionis*, rinvenuto per la prima volta nel 2006 da un pescatore non professionista in trote iridee (*Oncorhynchus mykiss*) pescate in un corso d'acqua in prossimità di Merano (BZ), indagini parassitologiche hanno permesso di individuare questo parassita, fino ad allora descritto solo in Europa settentrionale, Asia e Nord America, in diverse specie ittiche nostrane. In particolare, prevalenze elevate (80,8%) con intensità d'infestazione fino a 100 parassiti/ospite sono state osservate nella trota iridea, mentre la trota fario (*S. trutta* m. *fario*) e la trota marmorata (*S. trutta* m. *marmoratus*) sono risultate positive con valori di prevalenza ed intensità d'infestazione nettamente inferiori. Sono tuttora in corso le ricerche sugli ospiti intermedi, rappresentati da crostacei anfipodi, per valutare la possibilità che il ciclo biologico si sia già instaurato con successo negli ambienti acquatici in studio.
Le osservazioni istopatologiche condotte in coregoni parassitati da *T. crassus* e trote iridee infestate da *C. farionis* hanno permesso di rilevare evidenti alterazioni patologiche a carico, rispettivamente, di tessuto muscolare e vescica natatoria, soprattutto in correlazione ad elevate intensità di infestazione. Va poi evidenziato come, oltre all'effetto patogeno diretto sull'ospite, questi parassiti possano influenzare negativamente le dinamiche di popolazione in natura e, soprattutto nel caso di *T. crassus*, causare un notevole deprezzamento del valore commerciale del prodotto ittico, fino alla sua esclusione dal mercato.
Il rinvenimento di queste due nuove parassitosi a carico di popolazioni di salmonidi presenti in sistemi idrici nazionali pone in evidenza la necessità di associare una corretta analisi parassitologica agli esami sanitari già prescritti dalla normativa vigente per le attività di semina in acque pubbliche, onde evitare l'introduzione di patogeni parassitari difficilmente eradicabili qualora si dovesse verificare la loro stabile colonizzazione nell'ecosistema acquatico, come già dimostrato per *T. crassus*. Resta inoltre di fondamentale importanza la sensibilizzazione ed il coinvolgimento delle associazioni di pesca sportiva, in quanto dai dati in nostro possesso la causa più probabile dell'introduzione di queste due specie parassitarie sarebbe da riferire ad attività di ripopolamento non autorizzate con pesci infestati provenienti dall'estero.

UTILIZZO INTEGRATO DI PARAMETRI IMMUNITARI NEL MONITORAGGIO DI MITILI (*MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*, Lmk 1819) ALLEVATI PRESSO IL LAGO DI PAOLA (SABAUDIA, LATINA).

Mosca F.[1], Lanni L.[2], Bianco I.[3], Cargini D.[1], Narcisi V.[1], Calzetta A.[1], Tiscar P.G.[1]

[1]Dipartimento di Scienze Biomediche Comparate - Università degli Studi di Teramo - P.zza A. Moro, 45 - 64100 Teramo; [2]Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lazio e Toscana – Via Appia Nuova, 1411 - 00178 Roma; [3]Agenzia Regionale Protezione Ambientale (ARPA) Lazio - Sez. Prov. Latina - Via Oberdan, 3 - 04100 Latina

Il sistema immunitario dei molluschi bivalvi marini (MBM) viene soventemente impiegato quale indicatore nei processi di monitoraggio della qualità ambientale. In tal senso, le principali parametrazioni riguardano lo studio della fagocitosi e quindi la misurazione delle proprietà morfo-funzionali degli emociti responsabili dell'inglobamento e della distruzione degli elementi estranei all'organismo. L'impiego di metodiche rivolte alla valutazione delle caratteristiche ameboidi ed ossidative degli emociti di *Mytilus galloprovincialis* (Lmk, 1819) ha permesso finora di validare sperimentalmente alcuni parametri in grado di misurarne l'attività fagocitaria. L'applicazione delle metodiche strumentali messe a punto e dei relativi parametri è stata quindi condotta in studi di campo presso un allevamento di mitili ubicato nel lago di Paola (Sabaudia, Latina). I campionamenti sono stati effettuati su base stagionale in tre punti diversi e l'emolinfa è stata prelevata dal muscolo adduttore posteriore. La valutazione delle proprietà emocitarie è stata condotta mediante Analizzatore di Vitalità Cellulare al fine di misurare la vitalità, la concentrazione, ed il livello basale di circolarità quale espressione della rotondità emocitaria in condizioni di inattività. Le prove di fagocitosi sono state effettuate mediante batteri (*Vibrio alginolyticus*) onde evidenziare l'attività pseudopodica mediante il decremento del parametro circolarità, così come riscontrato in studi sperimentali. L'emolinfa di ciascun campione è stata inoltre sottoposta alla misurazione dell'attività ossidativa degli emociti mediante metodica in micrometodo, impiegando lieviti (*Saccharomyces cerevisiae*) quale stimolo fagocitario e luminolo quale tracciante nella rilevazione della sintesi di Specie Reattive dell'Ossigeno (ROS). In parallelo sono state condotte rilevazioni sulle caratteristiche fisiche (temperatura, salinità, ossigeno) delle acque mediante sonda multiparametrica, associate a rilevi chimici (azoto, fosforo, clorofilla) ed alla valutazione quali-quantitativa del fitoplancton. Il monitoraggio delle acque è stato condotto su base mensile dall'ARPA Lazio mediante procedure analitiche standard, impiegate nei piani di controllo regionali e nazionali. I risultati hanno evidenziato una modulazione dei parametri immunitari, indicando una differente condizione omeostatica degli organismi in relazione alla stagionalità del campionamento. Inoltre, le differenze riscontrate tra i diversi siti di campionamento sono state espresse attraverso un punteggio arbitrario calcolato sulla base delle parametrazioni effettuate e rappresentativo della risposta fagocitaria riscontrata nei soggetti campionati in punti diversi. In conclusione, il presente lavoro propone le metodiche impiegate ed i parametri misurati nella valutazione del sistema immunitario dei MBM, quale strumento di applicazione non solo nel monitoraggio della salute ambientale ma anche nei processi di controllo e gestione degli allevamenti e dei banchi naturali. In tal senso, ulteriori studi dovranno evidenziare i possibili legami esistenti tra l'andamento stagionale dei parametri immunitari considerati e le variazioni delle caratteristiche fisico-chimiche ambientali, così come risultano da verificare gli eventuali legami esistenti tra la funzionalità del sistema immunitario e lo stato di accrescimento o lo stadio sessuale degli organismi. Infine, l'influenza della condizione trofica delle acque sul sistema immunitario costituisce un ulteriore elemento di indagine, considerando il ruolo prioritario degli emociti non solo nei processi difensivi ma anche nel trasporto dei nutrienti.

ABSTRACT

Poster

MONITORAGGIO SANITARIO IN TROTICOLTURE DELLA REGIONE PIEMONTE: VALUTAZIONE DELLA DIFFUSIONE DI S.E.V. E N.E.I. NEL QUINQUENNIO 2003-2007

Prearo M., Arsieni P., Giordana G.[1], Giorgi I., Moda G.[2], Vignetta P.[2]

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Via Bologna, 148 – 10154 Torino; [1]ASL 15 - 12100 Cuneo; [2] Servizi Veterinari Regione Piemonte, C.so Stati Uniti, 1- 10100 Torino

La Regione Piemonte ha in atto da circa una decina d'anni, un monitoraggio sanitario completo sulle aziende di acquacoltura presenti nel proprio territorio che allevano Salmonidi; tale studio è incentrato nel verificare, attraverso l'esame virologico, la presenza e la diffusione di SEV e NEI nelle troticolture piemontesi. Il riconoscimento di allevamento indenne viene concesso dall'autorità comunitaria agli allevamenti che ne hanno fatto domanda (adesione su base volontaria), i quali devono possedere determinati requisiti strutturali e devono ottemperare al protocollo previsto dalla normativa cogente. La legislazione nazionale vigente invece, obbliga al riconoscimento comunitario tutte le imprese ittiche che effettuano ripopolamento delle acque pubbliche interne, lasciando invece per le altre tipologie di allevamento (allevamenti da produzione) la volontarietà del riconoscimento. Vista la presenza sul territorio regionale di un numero cospicuo di allevamenti a vocazione salmonicola da ripopolamento (trota fario, trota marmorata e salmerino alpino) e di incubatoi ittici provinciali di valle, si è ritenuto opportuno estendere questo studio anche su le imprese che non effettuano semine di materiale ittico in acque pubbliche, onde potere valutare l'effettiva diffusione delle Rhabdovirosi in questione. Per quanto riguarda gli allevamenti sotto procedura di riconoscimento, i prelievi sono stati condotti secondo la normativa (150 soggetti suddivisi in 15 pool da 10 soggetti ciascuno, prelevati due volte l'anno; dopo il riconoscimento, 30 soggetti suddivisi in 3 pool), mentre per le altre aziende, durante questo periodo si è effettuato un campionamento ridotto (3-15 pesci) più volte durante l'anno. Nella Regione Piemonte attualmente le aziende riconosciute sono 7, mentre sono riconosciute 11 zone/microzone con 12 allevamenti; infine, 3 incubatoi ittici sono in attesa di riconoscimento. Durante il periodo compreso tra gennaio 2003 e luglio 2007, sono stati controllati 95 siti produttivi, di cui 25 facenti capo a strutture provinciali (incubatoi di valle), distribuiti su 13 ASL (delle 22 presenti). Sono stati analizzati 22.792 soggetti sensibili alle Rhabdovirosi in questione, suddivisi in 2.363 pool. Più precisamente, durante il 2003 sono stati analizzati: 5.725 pesci con 582 pool (24,6%); nel 2004: 6.628 pesci con 687 pool (29,1%); nel 2005: 5.388 pesci con 550 pool (23,3%); nel 2006: 3.261 pesci con 348 pool (14,7%); infine, nel 2007: 1.790 pesci con 196 pool (8,3%). L'esame virologico, è stato condotto seguendo la procedura 20-DS-044 accreditata SINAL, utilizzando linee cellulari EPC e BF_2. In caso di postività, il riconoscimento virale è stato effettuato mediante immunofluorescenza (procedure accreditate) e la conferma è stata effettuata dal Centro di Referenza Nazionale per l'Ittiopatologia dell'IZS di Legnaro (PD). Per quanto riguarda le positività riscontrate, sono stati evidenziati 3 focolai di SEV e 1 di NEI durante il 2003, un solo focolaio di SEV durante il 2004 ed uno durante il 2006. Nel 2007 si sono potuti diagnosticare 2 focolai di SEV, uno di NEI e un focolaio dove è stato possibile isolare entrambi i virus. Pertanto, la situazione sanitaria degli allevamenti ittici piemontesi nei confronti di queste patologie virali appare relativamente buona ed è regolarmente monitorata. Le positività riscontrate sono risultate solo parzialmente sintomatiche. Per quanto riguarda il numero decrescente di campioni presente già a partire dal 2006, è da considerasi fisiologico, in quanto molte aziende che erano negli anni precedenti in programma, hanno ottenuto il riconoscimento, con conseguente diminuzione del numero dei soggetti prelevati ad ogni controllo.

IDENTIFICAZIONE DI *PHOTOBACTERIUM DAMSELAE* TRAMITE PCR: INDAGINE PRELIMINARE.

Rosteghin M.[1], Manfrin A.[1], Fasolato L.[1], Corrain C.[1], Arcangeli G.[1] , Bovo G.[1], Prearo M.[2]

[1]Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie – Laboratorio di Adria (RO) e Legnaro (PD); [2]Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta - Torino

La specie *Photobacterium damselae* viene comunemente suddivisa in due sottospecie: *Photobacterium damselae* subsp. *damselae* e *Photobacterium damselae* subsp. *piscicida*. *Ph. damselae* è stato inizialmente descritto come *Vibrio damsela* e in seguito trasferito al genere *Listonella;* tuttavia studi genetici hanno dato risultati contraddittori. La somiglianza fenotipica al genere *Photobacterium* ha condotto alcuni autori a proporre l'assegnazione del nome *Photobacterium damsela* in seguito corretto in *Ph. damselae*. *Ph. damselae* subsp. *piscicida* è stato inizialmente qualificato come "*Pasteurella* sp." e successivamente nominato "*Pasteurella piscicida*". L'appartenenza a questa specie è stata molto discussa a causa delle caratteristiche biochimiche e fenotipiche variabili. Studi tassonomici hanno evidenziato peculiarità tipiche della famiglia *Vibronaceae*. Studi filogenetici hanno confermato che l'agente della pasteurellosi ittica appartiene alla specie *Ph. damselae* ed è quindi stato inserito nel genere *Photobacterium* con il nome di *Ph. damselae* subsp. *piscicida*. Una ulteriore difficoltà di attribuzione deriva altresì dalla controversa assegnazione del sinonimo *Ph. histaminum* data a *Ph. damselae* subsp. *damselae*. Da lavori di sequenziamento genetico infatti emerge che le due specie costituiscono un unico taxa e l'appellativo *damselae* prevale su *histaminum*. In questo studio sono stati processati 66 ceppi isolati tra il 1999 e il 2007 e identificati preliminarmente come *Ph. damselae* subsp. *damselae*, *Ph. damselae* subsp. *piscicida* e *Pasteurella* sp.; inoltre sono stati testati 4 ceppi di referenza (tabella). Sono state effettuate le seguenti prove biochimiche: morfologia delle colonie e crescita a 24h, emolisi, crescita su TCBS, sieroagglutinazione rapida su vetrino (SAR) con siero policlonale anti *Ph. damselae* subsp. *piscicida*. E' stata eseguita la PCR con il metodo proposto da Rajan *et al*. (2003) [(1)] che identifica un frammento di gene per la capsula batterica e fornisce un prodotto di 410 pb; tale segmento specifico per la specie *Photobacterium damselae* dovrebbe essere presente nelle due subspecie. I risultati delle varie prove sono riportati nella tabella seguente:

ID	**N ceppi**	**Crescita su TCBS**			**Emolisi β**	**Emolisi assente**	**SAR+**	**PCR positiva**
Photobacterium damselae		**Verde**	**Gialla**	**Neg.**				
*subsp. damselae**	32	13	6	13	20	12	4	9
subsp. piscicida[ϕ]	30	2	1	27	1	29	26	26
*NCIMB 2184; DSMZ 7482	2	2	0	0	2	0	0	0
[ϕ]ATCC 19911; NCIMB 2058	2	0	0	2	0	2	2	2
Totale	66	17	7	42	23	43	32	37

Grazie alla SAG positiva, alle verifiche biochimiche e alla riprova in PCR 26 ceppi sono stati confermati *Ph. damselae* subsp. *piscicida.* Al contrario 4 ceppi attribuiti alla subsp. *damselae* risultano essere in realtà subsp. *piscicida*. Tuttavia si è evidenziata una discrepanza nei risultati attesi in quanto i ceppi di *Ph. damselae* subsp. *damselae* di referenza testati non hanno amplificato. Per tale motivo i ceppi negativi alla PCR non possono essere esclusi dall'appartenenza alla specie *Ph. damselae*. I ceppi di referenza testati sono diversi dai ceppi di riferimento utilizzati da Rajan [(1)]. Concludendo, i risultati ottenuti fanno ipotizzare che i primer utilizzati non siano specifici per tutti i ceppi della specie *Photobacterium damselae.*

[(1)] Rajan P.R., Lin J.H.-Y., Ho M.-S. & Yang H.-L. (2003). Simple and rapid detection of *Photobacterium damselae* ssp. *piscicida* by a PCR technique and plating method. *J. Appl. Microbiol.* 95: 1375–1380.

GENOTIPIZZAZIONE TRAMITE RAPD (*RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA*) DI CEPPI DI *LACTOCOCCUS GARVIEAE* ISOLATI IN ITALIA

Fasolato L.[1], Corrain C.[1], Manfrin A.[1], Rosteghin M.[1], Andrighetto C.[3], Arcangeli G.[1], Bovo G.[2], Prearo M.[4]

[1] Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie – Laboratorio di Adria (RO); [2] Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie – Legnaro (PD); [3] Istituto Qualità e Biotecnologie Agroalimentari, Veneto Agricoltura - Thiene (VI); [4] Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta - Torino

La tipizzazione genetica di agenti batterici viene impiegata al fine di individuare differenti gruppi di stipiti (tipi genetici) coinvolti in casi di malattia. La genotipizzazione di popolazioni di patogeni o lo studio di nuovi focolai, permette una migliore comprensione della diffusione degli stipiti sul territorio. L'impatto economico della lattococcosi e l'enorme distribuzione del patogeno in Italia, hanno indotto i produttori di trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*) all'introduzione della profilassi basata sull'utilizzo di vaccini stabulogeni. Per tale motivo una conoscenza più dettagliata dei "tipi genetici" circolanti negli allevamenti è essenziale alla corretta gestione delle vaccinazioni. La metodica RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) viene suggerita quale strumento di genotipizzazione rapido e sufficientemente selettivo da impiegare per la caratterizzazione di isolati di *Lactococcus garvieae*. Scopo del presente lavoro è stato quello di valutare la capacità discriminativa della metodica RAPD in isolati italiani derivati da differenti specie, allevamenti e in diversi anni di isolamento. Sono stati impiegati nello studio 48 isolati provenienti da specie ittiche quali trota iridea (n° 39), pesce gatto (*Ictalurus melas*) (n° 1), salmerino (*Salvelinus fontinalis*) (n° 1) e ricciola (*Seriola quinqueradiata*)(n° 1); sono stati testati al contempo 3 isolati derivati da vacca e 3 da capra. I ceppi sono stati identificati come *L. garvieae* sia mediante API ID32 strep rapid che tramite PCR classica, Real Time PCR e siero agglutinazione rapida. La procedura RAPD utilizza la diversa affinità casuale per primer aspecifici decanucleotidici in condizioni di bassa stringenza. Nel lavoro sono stati impiegati i Primer P5 e P6 del kit Ready To Go RAPD Analysis. L'analisi dei gel è stata effettuata mediante GelCompare; la similitudine tra i profili è stata calcolata mediante coefficiente di correlazione di Pearson che considera presenza o assenza di bande e intensità delle stesse. I dendrogrammi sono stati disegnati mediante UPGMA (*Unweighted average pair group method*). La riproducibilità del metodo, testata su ceppo spagnolo PP60-1, si è attestata al 90%. I profili RAPD ottenuti mediante Primer P5 hanno presentato un sufficiente numero di bande distinte (da 2458 bp a 496 bp). Al contrario, l'utilizzo di P6 nei ceppi italiani derivati da trote ha fornito un bandeggio ridotto con la presenza nella maggioranza dei campioni di una singola banda di 440 pb di peso molecolare. Il numero di RAPD tipi ottenuti per ciascun Primer è stato rispettivamente di 10 (P5) e 8 (P6) clusterizzati in modo similare ma non completamente sovrapponibile, con la costituzione di due raggruppamenti principali. L'elaborazione combinata dei due Primer ha permesso di evidenziare 14 RAPD tipi e la costituzione di un clone principale dato da 32 isolati da troticolture italiane. I due cluster principali corrispondono, rispettivamente, il primo ai ceppi isolati dall'ambiente terrestre incluso il ceppo PP60-1 e l'isolato da pesce gatto, mentre il secondo è comprensivo di tutti gli isolati dall'ambiente acquatico rimanenti. I cluster si differenziano per il 76%, mentre presentano un grado di similitudine tra gli isolati >52% (mammiferi) e >54% (trote). Con l'esclusione del clone individuato, i gradi di similarità tra i differenti tipi sono variabili e non sempre ascrivibili entro i *range* di correlazione epidemiologica (>75% di similarità). L'utilizzo di gel combinati ha permesso quindi una migliore definizione del numero dei tipi genetici ed un rapido screening dei ceppi. Tuttavia la bassa ripetibilità del metodo e i Primer testati non consentono l'utilizzo della RAPD nello studio dettagliato delle differenze tra gli isolati da troticolture italiane.

ANTIBIOTICO-RESISTENZA IN CEPPI DI *LACTOCOCCUS GARVIEAE* ISOLATI DA SALMONIDI NEL PERIODO 1994-2005: RISULTATI PRELIMINARI

Pennelli D.[1], Salogni C.[1], Tagliabue S.[1], Alborali L.[1]

[1]*Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia.*

La Lattococcosi ittica in Italia è considerata la principale responsabile di importanti cali della produzione annua di trote. Gli antibiotici rappresentano uno dei metodi di controllo della malattia anche se è necessario considerare che l'uso indiscriminato può portare ad un incremento dell'antibiotico resistenza. Inoltre, alcune delle sostanze impiegate che abbiano dimostrato efficacia *in vitro*, possono risultare inefficaci in condizioni di campo. Con questo lavoro sperimentale si intende fornire un primo contributo allo studio dell'antibiotico-resistenza *in vitro* di *Lactococcus (L.) garvieae*.

Sono stati esaminati un totale di 73 ceppi di *L. garvieae* isolati da trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*) nel periodo 1994-2005, provenienti da insediamenti produttivi dell'Italia settentrionale. Si è proceduto alla applicazione del metodo della diffusione in agar (Kirby-Bauer); ciascun ceppo è stato testato con un pannello allargato di 27 antimicrobici: Amminosidina (60 µg), Amoxicillina (25 µg), Amoxicillina + acido clavulanico (20/10 µg), Apramicina (15 µg), Cefalotina (30 µg), Cefquinome (10 µg), Ceftiofur (30 µg), Colistina (10 µg), Danofloxacin (5 µg), Doxiciclina (30 µg), Enrofloxacin (5 µg), Eritromicina (15 µg), Florfenicolo (30 µg), Flumequine (30 µg), Gentamicina (10 µg), Kanamicina (30 µg), Marbofloxacina (5 µg), Neomicina (10 µg), Penicillina (10 U.I.), Spiramicina (100 µg), Sulfadiazina (25 µg), Tetraciclina (30 µg), Tiamfenicolo (30 µg), Tiamulina (30 µg), Tilmicosina (15 µg), Trimethoprim + sulfametoxazolo (1.25/23.75 µg), tulatromicina (30 µg). Tali molecole sono state selezionate tenendo conto della normativa attuale sul farmaco veterinario, dell'esito di ricerche precedenti e della letteratura nazionale ed internazionale attualmente disponibile sull'argomento.

Dall'esame dei risultati ottenuti si evince una assoluta resistenza nel periodo di studio per flumequine (100%) ed un riscontro di poco inferiore per colistina, sulfadiazina e tiamulina (97%); a seguire un grado di antibiotico-resistenza decrescente per le altre molecole testate. Degno di nota è il riscontro di piena sensibilità (100%) in tutti i ceppi testati per le seguenti molecole: amoxicillina, amoxicillina + acido clavulanico e gentamicina; un riscontro molto soddisfacente è stato ottenuto anche per cefquinome (98,6%), eritromicina, florfenicolo (97,3%), marbofloxacina (97%), doxiciclina e tiamfenicolo (95,9%).

I risultati relativi allo studio dei profili di multiresistenza nei ceppi saggiati mostrano che il 27,4% di questi ha manifestato resistenza verso sette molecole differenti; nel periodo considerato è stato riscontrato il fenomeno di resistenza verso almeno quattro chemioterapici differenti (5,8% dei ceppi testati) e, in un caso, è stata evidenziata resistenza verso quattordici diversi antibiotici.

L'indagine riportata rappresenta una prima fase di uno studio dell'evoluzione dell'antibiotico resistenza di ceppi di *L. garvieae* isolati nella routine diagnostica che sarà ulteriormente approfondita con l'applicazione della MIC.

PRESENZA DI MICOBATTERI ATIPICI IN UNA POPOLAZIONE SELVATICA DI SILURI (*SILURUS GLANIS*) PESCATI NEL TRATTO ALESSANDRINO DEL FIUME PO

Giorgi I., Pascale M.[1], Guarise S.[2], Abete M.C., Forneris G.[2], Prearo M.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Via Bologna, 148 – 10154 Torino; [1]Ittiologo, Via Martiri della Libertà, 21 – 10060 Osasco (TO); [2] Facoltà di Medicina Veterinaria, Via L. da Vinci, 44 – 10095 Grugliasco (TO)

Il siluro (*Silurus glanis*) è un pesce d'acqua dolce europeo, appartenente alla famiglia dei Siluridae. Viene considerata una specie alloctona e la sua diffusione sul territorio nazionale è avvenuta intorno agli anni '60, con sua espansione in vari bacini fluviali dell'Italia settentrionale. E' tra i maggiori predatori delle acque interne ed è posto al vertice della catena alimentare: durante la fase giovanile si nutre di invertebrati bentonici, mentre nella fase adulta si alimenta di pesci, soprattutto ciprinidi. Gli esemplari di maggiori dimensioni si nutrono di altri vertebrati quali rane, ratti e uccelli selvatici. La presenza del siluro nei bacini fluviali rappresenta una forte minaccia per le popolazioni ittiche autoctone, tale da poter alterare gli equilibri ambientali con riduzione del numero degli individui e della biodiversità.
Scopo del presente lavoro è indagare sulla presenza di *Mycobacterium* spp. nel siluro e valutare il ruolo nella eventuale diffusione delle micobatteriosi atipiche nell'ambiente.
Da marzo a settembre 2007 sono stati analizzati 60 esemplari di siluro, pescati nel tratto alessandrino del fiume Po (Valmacca). Per ogni esemplare è stato eseguito un esame anatomopatologico, batteriologico, virologico e parassitologico; inoltre è stata condotta una ricerca per micobatteri, con prelievo di porzioni di fegato e rene. Gli organi, sono stati omogenati in stomacher, decontaminati con HPC, centrifugati ed infine seminati su 2 tubi di Löwenstein-Jensen (uno incubato in termostato a 28±2°C e l'altro a 37±2°C) e su Stonebrink (incubato a 28±2°C). Sui campioni risultati positivi si è effettuata una colorazione Ziehl-Neelsen per verificare l'acido-alcool resistenza e successivamente sono stati identificati fenotipicamente e biochimicamente, seconda quanto riportato dal CDC Manual.
Sui 120 campioni analizzati (1 campione di fegato e di rene per ogni esemplare) è stato possibile isolare 4 positività e precisamente 1 *Mycobacterium flavescens* in rene di un siluro campionato nel mese di marzo, 2 ceppi di *M. fortuitum* in fegato e rene di due esemplari diversi, campionati nel mese di aprile ed infine 1 ceppo di *M. fortuitum* in rene di un siluro campionato nel mese di settembre. La percentuale di positività riscontrata nei campionamenti condotti su tale areale relativamente ristretto risulta essere pari al 6,67%. In nessuno dei casi riscontrati positivi sono stati trovati reperti anatomopatologici assimilabili a noduli e granulomi da micobatteri: l'esame anatomopatologico non ha altresì rilevato lesioni di sorta. Per quanto riguarda l'esame colturale e l'esame parassitologico si è potuto osservare delle diverse positività di diversa intensità, distribuite soprattutto nei mesi primaverili, non oggetto però di tale studio. Le analisi virologiche hanno sempre dato esito negativo.
La mancanza di lesioni macroscopicamente evidenti, assimilabili a granulomi da micobatteri, fa supporre che, almeno nei casi da noi verificati, gli esemplari possano essere considerati dei portatori asintomatici. L'isolamento di micobatteri atipici in fegato e rene potrebbe comunque essere indicativo di un interessamento sistemico; essendo patologie ad andamento cronico, la mancanza di lesioni macroscopiche potrebbe anche essere espressione di un recente contatto dei soggetti con i micobatteri, probabilmente avvenuto per via alimentare.
E' importante proseguire tali indagini in modo da monitorare la presenza delle micobatteriosi atipiche in questi predatori e verificare il reale ruolo patogeno che tali germi possono svolgere nell'ecosistema fluviale.

RICERCA DI MICOBATTERIOSI ATIPICHE IN RANE (*RANA ESCULENTA*) DI CATTURA PROVENIENTI DALL'ALBANIA

Prearo M., Rossi F., Zoppi S., Giorgi I., Abete M.C., Giaccone V.[1], Zanoni R.G.[2]

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Via Bologna, 148 – 10154 Torino; [1]Dpt. Sanità Pubblica, Patologia Comparata e Igiene Veterinaria, Viale dell'Università, 16 – 35020 Legnaro (PD); [2]Dpt. Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Via Tolara di sopra, 50 – 40064 Ozzano dell'Emilia (BO)

Le rane, elementi della cucina tradizionale delle zone umide della Pianura Padana, vengono attualmente importate da numerosi paesi comunitari ed extracomunitari (Grecia, Romania, Bulgaria, Albania, Turchia, Egitto, Indonesia) per soddisfare la richiesta interna. Per quanto riguarda le Micobatteriosi atipiche, poco si sa sulla reale diffusione dell'infezione e sul possibile ruolo di questi anfibi nel mantenimento in natura di tale zoonosi minore. Alla luce delle poche notizie in merito, si è voluto effettuare un studio preliminare sulla presenza di *Mycobacterium* spp. in campioni di rane vive, prelevate da partite provenienti dall'Albania.
Sono stati analizzati 188 esemplari di *Rana esculenta* prelevati presso un'azienda del torinese che importa rane vive dall'estero. I soggetti prelevati erano tutti di cattura, provenienti dall'Albania. I tre lotti da cui sono stati effettuati i prelievi in esame, provenivano da partite di circa 2.000 soggetti, prelevati entro 24 ore dalla consegna. Presso il laboratorio di Ittiopatologia dell'IZS di Torino è stato eseguito un esame anatomopatologico preliminare, per valutare la presenza di eventuali lesioni macroscopicamente visibili e riconducibili a micobatteriosi. Da ogni animale sono stati prelevati in sterilità cute, masse muscolari e fegato. Tali aliquote sono state processate, decontaminate e centrifugate ed il sedimento ottenuto, è stato seminato su Stonebrink e Löwestein-Jensen: i tubi sono stati incubati in termostato a 28°C fino allo sviluppo di colonie, oppure, in assenza di crescita, per sessanta giorni dalla data di semina. Tutte le colonie sviluppatesi sono state sottoposte a colorazione ZN e quelle positive trapiantate per le successive prove biochimiche di tipizzazione. Su ognuno di questi ceppi si sono eseguiti test fenotipici, seguendo le modalità indicate dal CDC Manual.
Si è ottenuta una positività per *Mycobacterium* spp., per almeno una aliquota, in 84 esemplari (44,6%) su 188 di *Rana esculenta* esaminati. A livello di cute si è riscontrata una positività del 34% (64 campioni), mentre a livello di fegato sono risultate positive il 20,2% delle aliquote (38 campioni); solamente un campione di muscolo è risultato positivo (0,5%). Sono stati isolati 103 ceppi: 47 *Mycobacterium chelonae* (45,6%), 21 *M. fortuitum* (20,4%), 19 *M. gordonae* (18,4%), 13 *M. flavescens* (12,6%), 2 *M. kansasii* (1,9%) e 1 *M. marinum* (9,7%). Sia a livello cutaneo che a livello epatico, la specie più rappresentativa è stata *M. chelonae* (22 isolati, 34,3% in cute e 25 isolati, 65,7% in fegato). A livello muscolare l'isolato è stato classificato come *M. marinum*.
Il dato atteso era che la porzione muscolare (parte edibile), presentasse un basso livello di contaminazione, mentre ci si aspettava una contaminazione maggiore della porzione non edibile (cute e fegato); i risultati ottenuti hanno confermato tale ipotesi. Il riscontro frequente di positività nelle sole aliquote di cute, favorisce l'ipotesi di una contaminazione "esterna" di alcuni campioni, dovuta all'ambiente in cui gli animali vivono, piuttosto che di una vera e propria infezione. Questo dato è ulteriormente supportato dal fatto che in nessun animale si sono rilevate lesioni sia macroscopiche, sia microscopiche riconducibili a micobatteriosi. Tuttavia, l'isolamento di *Mycobacterium* spp. anche da numerosi campioni di fegato e da un muscolo potrebbe essere indicativo di un interessamento sistemico, essendo coinvolti apparati non a contatto con l'ambiente esterno. In base ai dati preliminari ottenuti e alla provenienza univoca dei campioni, appare utile condurre ulteriori indagini su campioni di varia provenienza e specie diverse.

EPISODIO DI ENTEROMYXOSI IN SARAGHI PIZZUTI (*DIPLODUS PUNTAZZO*) ALLEVATI IN GABBIE GALLEGGIANTI IN ITALIA

Caffara M., Florio D., Basile F.[§], Gustinelli A., Marcer F.*, Beraldo P.[#], Volpatti D.[#], Brizzi G.°, Cascone V.°, Fioravanti M.L., Santamaria F.[§]

Dip. Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Università di Bologna; [§] *Maricoltura Mattinatese S.c.a.r.l., * Dip. Sanità Pubblica, Patologia Comparata e Igiene Veterinaria, Università di Padova*; [#] *Dip. Scienze Animali, Università di Udine; ° Chlamys S.r.l.*

L'enteromixosi è una malattia parassitaria sostenuta da un mixosporidio istozoico, *Enteromyxum* (*Myxidium*) *leei*, descritto per la prima volta nel 1992 in orate allevate a Cipro ed in seguito segnalato sia in specie ittiche allevate per il consumo umano, in particolare sparidi, sia in specie ittiche marine ornamentali. La scarsa ospite-specificità, unitamente alla via di trasmissione diretta ed alla grave malattia enterica conseguente all'infezione, rendono questa parassitosi una delle patologie più significative per l'allevamento intensivo degli sparidi ed in particolare per il sarago pizzuto (*Diplodus puntazzo*). Anche in Italia l'enteromixosi ha determinato gravi perdite economiche in questa specie ittica d'interesse commerciale, causando una drastica riduzione delle sue produzioni d'allevamento. Nell'ambito del progetto di ricerca "Controllo delle parassitosi limitanti la produzione di sarago pizzuto (*D. puntazzo*) al fine della diversificazione produttiva in maricoltura" finanziato dalla Regione Puglia, nell'estate 2006 si sono condotte osservazioni nel corso di un grave episodio di mortalità in soggetti di sarago pizzuto allevati in gabbie galleggianti sotto costa. I soggetti facevano parte di un lotto composto da 103.000 esemplari (peso medio 6,5 g), immesso in allevamento nel mese di giugno, inizialmente in un'unica gabbia e successivamente suddiviso in tre gabbie: 52.000 soggetti in una gabbia di 1.250 m^3 (gruppo 1), 41.000 in una gabbia di 600 m^3 (gruppo 2) ed infine 10.000 soggetti in policoltura con 47.750 orate (*Sparus aurata*) in una gabbia di 1.250 m^3 (gruppo 3). Esami parassitologici, batteriologici, virologici (RT-PCR per Betanodavirus) ed istologici sono stati condotti sia prima dell'introduzione dei pesci in allevamento che durante il ciclo produttivo. Giornalmente venivano rilevati ossigeno e temperatura. Al fine di individuare eventuali ospiti alternati del parassita sono stati condotti esami parassitologici a fresco e PCR per *E. leei* su invertebrati bentonici (anellidi, crostacei, molluschi gasteropodi e bivalvi, briozoi ed idrozoi) campionati dal fondale marino in prossimità delle gabbie e/o dal materiale incrostante le reti delle gabbie.
Dal momento dell'immissione in allevamento sino alla fine di luglio tutti i soggetti esaminati sono risultati negativi per *E. leei* sia all'esame parassitologico a fresco sia alla PCR. Solo a partire da metà agosto (peso medio 35-40 g) si è osservata positività per *E. leei* seguita da rapida insorgenza di enterite parassitaria associata ad elevata mortalità. La mortalità cumulativa, che si è protratta per circa 2 mesi con prevalenza dell'infezione del 100%, è stata pari al 68% nel gruppo 1, 80% nel gruppo 2 e 67% nel gruppo 3. Non sono stati osservati episodi di mortalità nelle orate allevate in policoltura con i saraghi. *Photobacterium damselae* subsp. *piscicida* è stata isolata dai soggetti del gruppo 1 e 2 in concomitanza di un lieve aumento della mortalità, mentre tutti i soggetti esaminati sono risultati negativi alla ricerca di Betanodavirus. La progressione dell'infezione è stata documentata con osservazioni di carattere istopatologico. Sia l'esame parassitologico a fresco che la PCR condotti sugli invertebrati bentonici sono risultati negativi per *E. leei*. In base ai risultati di questo studio alcuni fattori gestionali ed ambientali, quali *in primis* densità di biomassa e temperatura dell'acqua, sembrano influenzare in maniera rilevante il decorso clinico dell'enteromixosi in allevamento.

RISPOSTA IMMUNITARIA IN SARAGO PIZZUTO (*DIPLODUS PUNTAZZO*, CETTI 1777) IN CORSO DI INFEZIONE DA *ENTEROMYXUM LEEI*

Volpatti D.[1], Contessi B.[1], Beraldo P.[1], Bulfon C.[1], Basile F. [3], Fioravanti M.L.[2], Galeotti M.[1]

[1]Dipartimento di Scienze Animali, Università di Udine - [2]Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Università di Bologna - [3]Maricoltura Mattinatese scarl, Italia.

Enteromyxum leei, agente eziologico di gravi mixidiosi intestinali, infetta più di 25 specie ittiche diverse, ma in particolare rappresenta un fattore limitante per la produzione del sarago pizzuto (*D. puntazzo*), causando un'elevata mortalità durante il primo anno di allevamento. Le conoscenze sui meccanismi di infezione e l'interazione ospite-parassita sono limitate per quanto riguarda questa specie, tuttavia recentemente alcuni parametri di immunità innata sono stati studiati nel corso di un'infezione indotta sperimentalmente (Golomazou *et al*., 2006; Munoz *et al*., 2007). Su questa base, lo scopo della presente indagine è stato quello di valutare alcuni parametri ematologici nel corso di episodi spontanei di infezione da *E. leei* in sarago pizzuto. La popolazione studiata è stata distinta in gruppi in base al riscontro di differenti quadri di malattia, determinati tramite esame parassitologico ed istopatologico. Sulla base di queste osservazioni i gruppi sono stati delineati come segue: 1) controllo; 2) infezione iniziale, caratterizzata dalla presenza di rari stadi vegetativi del parassita nell'intestino, e assenza di mortalità; 3) infezione acuta, caratterizzata dalla presenza massiva di stadi pre-sporogonici in tutto l'intestino, con mortalità elevata; 4) infezione cronica, con presenza persistente del parassita, severa enterite linfocitaria ed assenza di mortalità. I soggetti sono stati sottoposti a prelievo di sangue e alla valutazione dei seguenti parametri immunologici: conta leucocitaria differenziale su striscio ematico (granulociti neutrofili e acidofili, linfociti, monociti); proteine e immunoglobuline sieriche; attività di perossidasi ed elastasi; attività emolitica (ACH50) del siero. I dati sono stati confrontati con ANOVA ad una via, seguito dal test Tukey's per il confronto tra le medie. Le analisi condotte hanno evidenziato che le proteine totali sono sensibilmente più elevate nei soggetti infetti rispetto ai controlli, mentre le immunoglobuline totali subiscono un modesto incremento solo nella fase iniziale di infezione. L'attività perossidasica del siero è più elevata nell'infezione acuta e cronica, mentre l'attività dell'elastasi non subisce variazioni significative tra i gruppi considerati. L'attività della via alternativa del complemento risulta ridotta nei gruppi in fase iniziale e acuta di infezione. Il leucogramma subisce consistenti variazioni fra i gruppi considerati. Entrambe le popolazioni di granulociti aumentano nel gruppo con infezione acuta, ma soltanto gli acidofili mantengono una percentuale relativa elevata anche nella fase di infezione cronica. I monociti non subiscono variazioni degne di nota fra i gruppi. I linfociti risultano percentualmente più ridotti nei gruppi con infezione acuta e cronica, rispetto ai gruppi di controllo e con infezione allo stadio iniziale. Quanto riscontrato è in accordo con i dati già riportati da altri autori per specie come il rombo e l'orata (Sitja-Bobadilla *et al*., 2006; Cuesta *et al*., 2006). In conclusione il presente studio ha consentito di approfondire alcuni aspetti della risposta immunitaria del sarago pizzuto nei confronti di *E. leei*. La presenza del parassita sembra indurre una progressiva attivazione delle popolazioni granulocitarie circolanti (in particolare degli acidofili) con conseguente rilascio di perossidasi nel siero, e un reclutamento dei linfociti a livello intestinale, come confermato dai riscontri istopatologici. Il consumo delle proteine complementari nei soggetti infetti suggerisce un potenziale ruolo di tale sistema nella difesa contro il parassita.

Cuesta *et al*., 2006. Parasitology, 132, 95-104. Golomazou *et al*., 2006. Aquaculture, 260, 44-53. Munoz *et al*., 2007. Fish and Shellfish Immunology, 23, 636-645. Sitja-Bobadilla *et al*., 2006. Fish and Shellfish Immunology, 21, 485-500.

INFESTAZIONE DA *GYRODACTYLUS TURNBULLI* IN GUPPY (*POECILIA RETICULATA*) D'ALLEVAMENTO

Salogni C.[1], Aquaro G.[2], Galli P.[2], Gelmetti D.[1], Alborali L.[1]

[1] *Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna - Brescia;*
[2] *Dipartimento di Biotecnologie e Bioscienza. Università degli Studi Milano Bicocca - Milano.*

I trematodi Monogenei girodattilidi a localizzazione cutanea rivestono un ruolo patogeno importante, sebbene specie specifico, legato all'azione traumatizzante dell'apparato di adesione fornito di uncini (haptor). A ciò si unisce all'elevata capacità riproduttiva e diffusiva. I Monogenei maggiormente riscontrati in guppy (*Poecilia reticulata*) sono *Gyrodactylus turnbulli*, *Gyrodactylus bullatarudis* e *Urocleidoides reticulata.* Le Girodattilosi in guppy, sono state studiate per quanto riguarda le popolazioni selvatiche, ma fino ad ora non sono state descritte problematiche riguardanti popolazioni allevate in cattività.
Nel presente lavoro viene descritto un caso d'infestazione da *Gyrodactylus turnbulli* in un piccolo allevamento italiano di guppy avvenuto nell'estate del 2006 e responsabile di elevata mortalità. Quest'ultima ha interessato soprattutto gli avannotti a partire dall'età di 2-3 giorni fino ad un mese, ed in minor misura gli esemplari adulti. I soggetti esaminati hanno mostrato uno stato di nutrizione scadente, nuoto con movimenti a scatto o dondolanti e frequenti fregamenti contro superfici rigide. Le pinne, in modo particolare la caudale, apparivano raccolte fino a diventare filiformi. Sulla cute erano apprezzabili lesioni caratterizzate da aree biancastre, opache che apparivano distribuite abbastanza uniformemente su tutto il corpo degli esemplari adulti. Negli avannotti le lesioni cutanee si localizzavano invece prevalentemente sul dorso e sul peduncolo caudale. Nei soggetti adulti le lesioni apparivano meno gravi rispetto agli avannotti.
L'andamento delle manifestazioni cliniche è stato sub-acuto negli avannotti e cronico negli adulti. Nei giovani si sono avute perdite anche dell'80-100% dei soggetti nell'arco di 1-2 settimane dall'inizio delle manifestazioni cliniche. Negli adulti si è osservata una mortalità a stillicidio.
I campioni pervenuti in laboratorio sono stati sottoposti ad esami routinari parassitologici microscopici, colturali, micologici, virologici ed istologici.
In tutti gli esemplari esaminati è stata possibile rilevare una massiva infestazione da *Gyrodactylus turnbulli*. Istologicamente erano apprezzabili corpi parassitari sulla superficie cutanea. In alcuni esemplari, era apprezzabile una miosite linfoleucocitaria. Gli esami batteriologici, micologici e virologici eseguiti in parallelo hanno dato esito negativo.

PARASSITOFAUNA DI SILURO EUROPEO (*SILURUS GLANIS*) DEL FIUME PO

Gustinelli A.[1], Gaglio G.[2], Paladini G. [1], Fioravanti M.L.[1], Guarise S.[3], Prearo M.[4]

[1]Dip. Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Università di Bologna; [2]Dip. Sanità Pubblica Veterinaria, Università di Messina; [3]Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Torino; [4]Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino

Il siluro europeo (*Silurus glanis*) fin dalle prime segnalazioni in Italia, risalenti a circa 30 anni fa, ha sempre suscitato discussioni controverse sull'impatto che può esercitare sull'ecosistema per l'estrema adattabilità e voracità che lo contraddistinguono. Se infatti da adulto il siluro è un predatore quasi esclusivamente ittiofago (pur nutrendosi anche di anfibi, mammiferi e uccelli), nelle fasi giovanili di sviluppo la sua alimentazione è costituita prevalentemente da molluschi, insetti e crostacei. Questa spiccata attitudine predatoria lo rende potenziale ospite definitivo e paratenico di parassiti eteroxeni, tanto che dalla letteratura consultata la composizione della fauna parassitaria di questa specie ittica risulta notevolmente diversificata. Poiché le conoscenze relative ai parassiti di *S. glanis* in Italia sono ancora piuttosto scarse, ad eccezione di sporadiche segnalazioni condotte nel corso dell'ultimo ventennio, durante il 2007 si è intrapreso uno studio volto a delineare la parassitofauna di siluri prelevati dal tratto piemontese del fiume Po nell'ambito di un monitoraggio più generale sullo stato sanitario di questa specie ittica. Mediante elettrostorditore sono stati campionati 58 siluri (25 nel mese di marzo, 22 in aprile e 11 in settembre) provenienti dal tratto di Po situato in provincia di Alessandria. Tutti i soggetti sono stati sottoposti ad esame virologico, batteriologico, parassitologico e tossicologico secondo metodiche di laboratorio standard. Nel presente lavoro vengono riportati i risultati relativi alle indagini parassitologiche.

La presenza di parassiti è stata rilevata in 47 (81%) dei siluri esaminati. In particolare sono stati reperiti monogenei Ancylodiscoididae della specie *Thaparocleidus vistulensis* in tutti i 47 soggetti positivi, trematodi digenei della famiglia Plagiorchidae in 21 (36,2%) soggetti, stadi larvali plerocerchi di cestodi Gryporhynchidae in 3 (5,2%), proglottidi di cestodi adulti in 1 (1,7%), 1 nematode allo stadio larvale in 1 (1,7%) ed acantocefali in 32 (55,2%) soggetti. In numerosi casi si sono riscontrate infestazioni multiple, in particolare 25 (53,2%) dei 47 siluri positivi hanno presentato coinfestazioni sostenute da 2 diverse specie, 8 (17%) da 3 specie e 2 (4,3%) da quattro specie, mentre 12 (25,5%) soggetti sono risultati positivi per una sola specie parassitaria.

I risultati preliminari sembrano indicare una notevole biodiversità della parassitofauna di *S. glanis* in Italia, a conferma di quanto segnalato in altri paesi dell'Europa orientale, quali ad esempio Repubblica Ceca e Slovacchia. Di particolare interesse è il reperimento di trematodi digenei Plagiorchidae e la presenza di stadi larvali di cestodi della famiglia Gryporhynchidae, parassiti non ancora descritti in Italia in *S. glanis* ed il cui ciclo biologico resta interamente da definire, sebbene sia noto il ruolo di ospite definitivo rivestito da alcune specie di uccelli ittiofagi nei confronti dei cestodi Gryporhynchidae. Per quanto riguarda gli acantocefali sono state identificate 3 diverse specie: *Pomphorhynchus laevis*, *Acanthocephalus lucii* e *A. anguillae*, di cui solo la prima risulta già segnalata in Italia in quest'ospite.

I risultati preliminari di questa indagine suggeriscono l'opportunità di proseguire le ricerche parassitologiche su questo ospite anche in altri distretti fluviali. Dal punto di vista ecologico il ruolo di *S. glanis* quale accumulatore di metalli pesanti in quanto specie predatoria al vertice della catena alimentare potrebbe risultare di notevole importanza, eventualmente in associazione alla conduzione di studi tossicologici sugli acantocefali, considerati idonei bioindicatori della presenza di metalli pesanti in specifici sistemi idrici.

VALUTAZIONE DEGLI EFFETTI INDOTTI DA DIETE A DIVERSO TENORE DI SELENIO SUGLI ENZIMI ANTIOSSIDANTI E SULL'ACCRESCIMENTO DI GIOVANI DI GAMBERO ROSSO AMERICANO (*PROCAMBARUS CLARKII*)

Dörr A.J.M.[1*], Pacini N.[1], La Porta G.[1], Taticchi M.I.[1], Elia A.C.[1], Natali M.[2], Abete M.C.[3], Prearo M.[3].

[1] Dipartimento di Biologia Cellulare e Ambientale, 06100 Perugia; [2] Provincia di Perugia 06100, Perugia; [3] Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, 10154 Torino

Il selenio è un oligoelemento essenziale per la crescita degli organismi, ma se assunto in alte concentrazioni può indurre tossicità. A tutela della salute esistono dei limiti di legge per le concentrazioni di selenio nei mangimi (0,5 mg/kg; 70/524/CEE).
Lo studio ha lo scopo di indagare i possibili effetti tossici di diete a diversa concentrazione di selenio, sugli enzimi antiossidanti e sull'accrescimento di giovani di ambedue i sessi di *Procambarus clarkii*. Durante la presente indagine, 200 esemplari giovani di *P. clarkii*, del Lago Trasimeno sono stati sessati, suddivisi in 4 vasche (2 controlli e 2 trattati) a flusso continuo di acqua. Gli esemplari, dopo acclimatazione, sono stati alimentati per 50 giorni, *ad libitum* (1,35 % del peso corporeo medio) con le due diete (protidi 47%, lipidi 20%, farina di pesce 45%), a differente contenuto in selenio (1.21 e 0.3 mg/kg).
I parametri chimico-fisici dell'acqua sono stati monitorati giornalmente (Temperatura 22,6 ± 3,5°C, pH 7,8 ± 0,3, % O_2 88,9 ± 1,8, O_2 mg/L 7,9 ± 0,3, µS/cm 1382,4 ± 8,9, media ± DS), cosi come i fenomeni di muta. Dalle vasche del controllo sono stati prelevati 10 esemplari al T_{15} ed al T_{30} e 20 al T_{50}, mentre da quelle dei trattati 20 per ogni tempo.
Di ogni individuo sono stati misurati i parametri morfometrici (peso totale, peso del fegato, lunghezza del cefalotorace). L'accrescimento ponderale è stato valutato attraverso l'analisi di regressione lunghezza peso ed il tasso di crescita specifico SGR. Confrontando le rette di regressione tra sessi e trattati e controlli, non sono state riscontrate differenze significative (Anova, $p>0,05$). La valutazione complessiva ha evidenziato un buon accrescimento con un valore del coefficiente b pari a 3.03 ($R2=0,83$, $p<0,001$). L'esame di correlazione tra peso totale e peso del fegato ha evidenziato differenze significative tra maschi e femmine ($p<0,001$) e per le femmine si registra inoltre un'ulteriore differenza tra trattati e controlli ($p<0,001$). Confrontando il peso totale del corpo rispetto al peso dell'addome sono state registrate forti correlazioni (R2 maschi=0,59, $p<0,001$; R2 femmine=0,83, $p<0,001$) con differenze significative tra i sessi ($p<0,001$). In particolare, come atteso, l'accrescimento dell'addome delle femmine è significativamente maggiore di quello dei maschi. La stima degli indici di condizione TWB e Hiw ha mostrato che non esistono differenze significative tra trattati e controlli tra i due sessi per il TWB, mentre si rileva una significativa differenza tra i trattati e controlli (T>C) per l'Hiw delle femmine ($t = 4,25$, $p<0,001$).
Le attività enzimatiche epatiche dei trattati hanno evidenziato risposte sesso-specifiche per Se-GPx e GR nei tre tempi d'indagine, rispetto a quelle del controllo. In particolare, è stata registrata una marcata deplezione delle attività di Se-GPx nelle femmine (Test di U-Mann Witney $p<0,05$) e di GR nei maschi (Test di U-Mann Witney $p<0.05$), durante i 50 giorni di sperimentazione. Al contrario, le attività di CAT e GST hanno evidenziato delle temporanee deplezioni, dal T_{15} al $T_{30,}$ ($p<0,01$) in ambedue i sessi.
In conclusione, la diminuzione di Hiw in ambedue i sessi di *P. clarkii*, statisticamente significativa solo per le femmine, e la marcata condizione di stress ossidativo osservata nei due sessi, indicano che la più alta concentrazione di selenio, somministrata con la dieta, è causa di un effetto tossico, già evidente nei primi tempi di sperimentazione.

RILEVAMENTO DI SOSTANZE CONTAMINANTI IN EPISODI DI MORTALITA' IN ALLEVAMENTI ITTICI, MEDIANTE L'UTILIZZO DEL SAGGIO DI TOSSICITA' ACUTA CON *VIBRIO FISCHERI*

Abete M.C., Scalas D., Bottalico A., Gramaglia M., Squadrone S., Rogato F.[1], Prearo M.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Via Bologna, 148 – 10154 Torino; [1] Skretting Italia, Hendrix S.p.A., Fraz. S. Zeno – 37060 Mozzecane (VR)

La presenza di contaminanti di natura chimica nelle acque rappresenta un rischio potenziale per la salute delle specie acquatiche, nonché per la salute umana, sia per un effetto tossico diretto, sia a causa della possibilità di mobilitazione ed amplificazione dell'effetto attraverso la catena alimentare. In ambito zootecnico, l'impiego di acque prive di contaminanti, consente ai pesci allevati un ottimale grado di benessere e garantisce la salubrità del prodotto alimentare derivato. Per il rilevamento delle caratteristiche qualitative delle acque, il solo approccio chimico-analitico presenta delle inevitabili limitazioni, legate principalmente al crescente numero di sostanze potenzialmente pericolose che possono contaminare l'ambiente idrico, ma anche alla impossibilità di determinare quantità al di sotto dei limiti di rilevabilità analitica. Nell'ultimo decennio si sono sviluppati differenti metodi biologici rivolti alla determinazione del rischio chimico nelle acque. Questi metodi presentano il vantaggio di valutare sia la frazione biodisponibile degli inquinanti, sia la presenza di eventuali fenomeni di potenziamento, sinergia e/o antagonismo tra le diverse sostanze. Il ricorso a saggi ecotossicologici pertanto può rappresentare un efficace metodo di indagine preliminare per la stima della qualità delle acque impiegate in acquacoltura.
L'utilizzo del saggio biologico con batteri bioluminescenti appartenenti alla specie *Vibrio fischeri*, consente di valutare da un punto di vita qualitativo la tossicità complessiva di campioni di acqua dolce, marina o salmastra, dei quali si ignora la natura del composto inquinante. Nel corso del periodo tardo estivo-autunnale del 2006, sono pervenuti presso l'istituto di Torino, 6 campioni di acqua provenienti da un allevamento semi-intensivo della zona costiera dell'alto Tirreno, in cui si era osservata una pesante mortalità di branzini di diversa pezzatura, in cui non era stato possibile associare una causa diretta di mortalità acuta. I campioni erano stati prelevati due direttamente dalle vasche di allevamento, due dalla bocca d'entrata del flusso idrico ed altri due direttamente dallo scarico. I campioni di acqua pervenuti in laboratorio sono stati analizzati entro 48 ore dal prelievo; il grado di tossicità dei campioni è stato valutato con un luminometro, l'analizzatore Microtox® Modello 500, collegato ad un computer provvisto del software MicrotoxOmni™ per l'acquisizione e l'elaborazione dei dati. Per il saggio biologico è stato utilizzato il ceppo batterico NRRL-B-11177 di *Vibrio fischeri* reidratato prima dell'uso con acqua ultrapura. Sui campioni in oggetto sono stati eseguiti un test di screening, in cui non è prevista la diluizione del campione ed un test preliminare della serie Microtox® Basic, che consente la determinazione della concentrazione del campione alla quale la bioluminescenza emessa da una popolazione monospecifica di batteri diminuisce del 50% (EC_{50}) rispetto a quella iniziale. La valutazione dell'emissione di bioluminescenza a tempi prestabiliti consente l'elaborazione statistica mediante il software specifico, che consente di definire la curva dose/effetto del campione in esame, le caratteristiche della retta di interpolazione ed il valore di EC_{50}. Tramite queste misurazioni i campioni in oggetto sono risultati tossici (percentuali di EC_{50} comprese tra 90,9% e 78,1%). Successive analisi chimiche approfondite hanno permesso di rilevare livelli elevati di pesticidi organoclorurati. I risultati ottenuti permettono di concludere come questo tipo di saggio biologico sia un metodo adatto al rilevamento di sostanze tossiche nelle acque impiegate in acquacoltura, fornendo i risultati in tempi estremamente brevi.

ABSTRACT

Incontro scientifico S.I.P.I.

ATTUALI INDIRIZZI DELLA RICERCA SCIENTIFICA RELATIVAMENTE ALLE PATOLOGIE VIRALI PRESENTI IN ACQUACOLTURA

Bovo G.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, viale dell'Università, 10 –35020 Legnaro (PD)

Negli ultimi anni alcune patologie, tipiche degli organismi acquatici, talvolta anche di vecchia conoscenza, hanno manifestato fenomeni di significativa recrudescenza, in termini di patogenicità, nuovi ospiti colpiti, diffusione in nuovi areali, causando forte preoccupazione tra i produttori e le autorità preposte al loro controllo. Questi nuovi aspetti hanno fornito ampia materia di lavoro per quanti si interessano, da un punto di vista scientifico, delle problematiche sanitarie in acquacoltura.
Contemporaneamente la Commissione Europea ha finanziato vari progetti di ricerca, alcuni dei quali, promossi direttamente dalla stessa Commissione, in quanto ritenuti fondamentali per la conoscenza di aspetti ancora poco noti. Da qui la realizzazione di FISHEGGTRADE, revisione critica di quanto fino ad oggi pubblicato nella letteratura scientifica, relativamente alla possibile trasmissione, dei principali agenti patogeni, per via verticale; un argomento di estremo interesse per le autorità sanitarie, preoccupate che talune malattie importanti si possano diffondere da un Paese all'altro, attraverso la commercializzazione delle uova.
Con il progetto IMAQUANIM , attualmente in corso e che vede coinvolti 22 partners di altrettanti centri di ricerca europei, si intende sviluppare una piattaforma di conoscenze tecnologiche per poter intervenire, migliorandole, sulle risposte immunitarie delle principali specie acquatiche allevate nella UE , nei confronti dei principali agenti patogeni. Il metodo di lavoro seguito prevede lo studio della risposta dell'ospite, sotto vari profili, come risposta all'infezione e/o vaccinazione, in condizioni controllate.
Il progetto DIPNET, di recente conclusione, si proponeva la raccolta delle informazioni ed opinioni scientifiche disponibili, relativamente alle interazioni tra popolazioni allevate e popolazioni selvatiche in merito alla diffusione dei patogeni.
Un ulteriore ed importante progetto è rappresentato da PANDA, iniziato nel 2004, con lo scopo di creare un network permanente di esperti, in grado di fornire, alla Commissione Europea, gli elementi scientifici a supporto delle misure sanitarie da intraprendere per evitare la diffusione nel territorio comunitario di malattie esotiche, emergenti e riemergenti .
Infine il progetto RANA intende valutare il rischio di diffusione agli anfibi ed alle specie ittiche d'allevamento nonché agli stock selvatici, di iridovirus sistemici, un genere in cui sono inseriti pericolosi agenti virali in grado di causare perdite preoccupanti in alcune specie sia d'acqua dolce che marina.
Per completare il quadro delle attività ed attuali indirizzi del mondo della ricerca, in materia di patologie virali, è utile volgere uno sguardo ai lavori presentati in occasione dei più recenti eventi internazionali, come la conferenza mondiale OIE sulla salute degli animali acquatici, svoltasi a Bergen nel settembre 2006; il I° Simposio internazionale sulla encefalopatia e retinopatia virale tenutosi ad Hiroshima nel dicembre 2006; il VII simposio internazionale dei virus dei vertebrati inferiori tenutosi ad Oslo nell'aprile 2007 e, più recentemente, la XIII conferenza internazionale EAFP di Grado, organizzata nel settembre 2007.
Tra gli argomenti di maggior interesse trattati si collocano i recenti episodi di setticemia emorragica virale nella regione dei grandi laghi (USA) dove si sono verificate, negli ultimi due anni, mortalità massive con coinvolgimento di un significativo numero di specie ittiche. Questi gravi episodi preoccupano enormemente tutti gli operatori del settore che auspicano un controllo rigido nei confronti delle importazioni di prodotti ittici dagli USA in quanto, il

ceppo di setticemia USA, appartiene ad un genotipo non presente in UE, potenzialmente patogeno per un numero imprecisato di specie .
Un altro argomento di interesse, riproposto in ogni evento scientifico, riguarda la herpesvirosi della carpa koi, una malattia che, negli ultimi anni, si è diffusa dai territori originali in cui è stata segnalata per la prima volta (Israele, USA), in molte altre aree geografiche, compresi la maggior parte dei Paesi dell'UE, Giappone, Cina, Malesia, Sumatra, Indonesia, Taiwan, causando perdite notevoli nelle popolazioni di carpe comuni allevate e nelle popolazioni selvatiche. Un ulteriore argomento di interesse generale è rappresentato dalla encefalopatia e retinopatia nota anche con il termine di nodavirosi, una patologia in grado di colpire oltre quaranta specie ittiche prevalentemente di origine marina, caratterizzata da un'ampia diffusione geografica. La necrosi pancreatica infettiva continua a destare sempre più interessi da parte dei ricercatori, dopo che essa ha assunto un'importanza crescente in corrispondenza della sua comparsa in salmonicoltura . Molta dell'attenzione è rivolta allo studio della virulenza e patogenicità del virus, ed alcuni risultati , indicano che le sequenze aminoacidiche della proteina VP2 sembrano essere coinvolte direttamente nelle caratterizzazione della virulenza dei diversi ceppi. Non vengono comunque escluse altre caratteristiche più generali che deporrebbero a favore della concorrenza di molteplici fattori esterni anche esterni al patogeno .
Ovviamente un grande interesse è rivolto alla vaccinazione soprattutto contro le principali malattie; purtroppo, malgrado lo sforzo delle aziende farmaceutiche coinvolte nello studio e produzione di vaccini, i prodotti commerciali disponibili per gli allevatori sono ancora estremamente limitati. Interessanti comunque le applicazioni del vaccino a DNA utilizzato in Canada contro la necrosi ematopoietica infettiva, negli allevamenti di salmone.

MALATTIE BATTERICHE EMERGENTI IN ACQUACOLTURA

Manfrin A.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro (PD)

Nell'ambito del XIII Convegno Internazionale dell'European Association of Fish Pathologists (EAFP) che si è svolto a Grado dal 17 al 22 settembre 2007, cui hanno partecipato circa 400 ricercatori provenienti da oltre 30 nazioni diverse, sono stati esposti 127 lavori orali e 222 poster. Relativamente alle patologie ad eziologia batterica numerosi sono stati i lavori che riguardavano le patologie classiche, in particolar modo riferite ai salmonidi: foruncolosi, vibriosi, flavobatteriosi, bocca rossa, BKD, lattococcosi. Per quanto riguarda le malattie emergenti, in quanto comparse recentemente o che hanno dato luogo ad episodi di recrudescenza negli ultimi anni, è il caso di menzionare: la francisellosi, le streptococcosi e le vibriosi cosiddette minori. Nel primo caso si tratta di una patologia estremamente importante, soprattutto per l'allevamento del merluzzo (*Gadus morhua*), dove determina delle forme granulomatose croniche con mortalità significativa . Per quanto riguarda le streptococcosi, oltre a *S. iniae* che tende ad interessare sempre un maggior numero di specie e comincia ad essere un problema importante per paesi con acquacoltura emergente, come il Brasile, anche *Streptococcus parauberis* e *S. agalactiae* risultano essere sempre più frequentemente ritenuti responsabili di episodi di malattia in specie ittiche d'acqua calda. La Vibriosi, invece, in particolare se riferita a *Vibrio alginolyticus* e *V. vulnificus*, comincia ad essere un problema sempre maggiore ed è oggetto di approfondimento da parte di numerosi ricercatori internazionali.
Un'altra patologia estremamente interessante, di eziologia ancora incerta ma che taluni autori riferiscono essere causata da fenomeni di sensibilizzazione per contatti ripetuti con *Flavobacterium psychrophilum*, è la Red Mark Syndrome (RMS) o Cold Water Strawberry Disease. Caratterizzata da una dermatite cronica e da tipici arrossamenti cutanei, anche di notevoli dimensioni, non determina gravi mortalità ma deprezzamento del prodotto e ridotto accrescimento degli animali colpiti.

AGGIORNAMENTI IN ITTIOPARASSITOLOGIA

Fioravanti M.L.

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Università di Bologna.

Nel 2007 il nostro paese ha ospitato due convegni di portata internazionale su argomenti di ittiopatologia, nello specifico la *13th International Conference of the EAFP* (European Association of Fish Pathologists) che si è svolta a Grado (GO) dal 17 al 22 settembre e, subito a ruota, il *7th International Symposium on Fish Parasites* (ISFP VII) tenutosi a Viterbo dal 24 al 28 settembre. Se nell'ambito del primo evento sono stati presentati lavori scientifici inerenti diversi settori della patologia degli animali acquatici, fra cui anche le malattie parassitarie, il secondo ha trattato specificatamente tematiche di ittioparassitologia, richiamando da tutto il mondo centinaia di ricercatori che lavorano in questo campo. Il titolo dato dagli organizzatori all'ISFP VII, "*Fish parasitology in the 21st century: from biodiversity and ecosystem to global warming*", riflette lo spirito di questo simposio, che ha inteso essere un luogo di incontro e discussione sullo stato dell'arte della parassitologia ittica per promuovere future linee di ricerca che tengano conto delle problematiche ambientali del nuovo millennio. Nell'ambito di entrambi gli eventi sono state organizzate sessioni sui parassiti/malattie parassitarie in acquacoltura, a dimostrazione del crescente riconoscimento dell'importanza sanitaria che questi organismi possono rivestire per le attività produttive acquatiche, parimenti a quanto già riconosciuto per la zootecnia terrestre. Numerose comunicazioni scientifiche hanno riguardato parassiti Myxozoa di pesci selvatici ed allevati, prendendone in considerazione aspetti puramente tassonomici e filogenetici o caratterizzandone meglio il ciclo biologico, le vie di trasmissione e gli effetti patogeni. In particolare alcune ricerche su *Tetracapsuloides bryosalmonae*, agente eziologico della Malattia Proliferativa Renale dei Salmonidi, hanno permesso di dimostrare il ruolo della trota fario (*Salmo trutta*) quale ospite vertebrato idoneo per il parassita in Europa, con realizzazione sperimentale del ciclo biologico alternato tra questa specie ittica e l'ospite briozoo *Fredericella sultana*. Di rilievo appaiono inoltre le segnalazioni di Myxozoa, per la prima volta, in uccelli anatidi ed in mammiferi insettivori, indicando la necessità di ampliare le ricerche sull'ospite-specificità di questi parassiti ritenuti fino ad oggi peculiari di invertebrati e vertebrati strettamente acquatici. Per quanto concerne i parassiti Microspora, di notevole interesse è apparsa la dimostrazione della trasmissione verticale di una specie di microsporidio gonadico, con un notevole arricchimento delle conoscenze sulle vie di trasmissione di questi parassiti endocellulari di crescente importanza sanitaria in acquacoltura. In relazione ai monogenei, numerosi contributi scientifici hanno presentato i risultati di ricerche inerenti la descrizione di nuove specie, l'ampliamento del range di ospiti, il ciclo biologico, l'influenza di fattori ambientali su trasmissione e sopravvivenza e, soprattutto in relazione a *Gyrodactylus salaris*, la messa a punto di metodiche diagnostiche altamente specifiche. Sono stati poi presentati contributi su tutti i principali taxa di parassiti ittici, dai cestodi ai trematodi digenei, annoverando fra quest'ultimi i sanguinicolidi quali patogeni emergenti nei pesci marini d'allevamento, dai nematodi agli acantocefali ai crostacei e così via, prestando grande attenzione anche alle zoonosi parassitarie di origine ittica correlate al consumo di prodotti ittici derivanti dalla pesca e dall'acquacoltura. In una specifica sessione dell'ISFP VII è stato anche affrontato ed approfondito il ruolo rivestito da alcuni parassiti metazoi quali bioindicatori negli ecosistemi acquatici. Infine, argomenti di controllo e terapia sono stati oggetto di alcune comunicazioni scientifiche nell'ambito di entrambi i convegni, seppure in numero troppo esiguo rispetto alle aspettative del mondo produttivo che, al momento attuale, ha a disposizione pochissime risorse per la prevenzione ed il controllo terapeutico delle malattie parassitarie.

"PATOLOGIA CARDIOVASCOLARE": SINTESI DEL WORKSHOP EAFP 2007 DI ISTOPATOLOGIA

Beraldo P.

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

Nell'ambito del 13th International Conference of the EAFP on "*Diseases of fish and shellfish*", tenutasi a Grado (GO) dal 17 al 22 settembre 2007, come di consueto, si è svolta la giornata studio dedicata all'istopatologia, che, per quest'edizione, aveva quale argomento la patologia cardiovascolare nei pesci. Tale evento si è svolto sabato 22 settembre 2007, presso il polo scientifico dell'Università degli Studi di Udine, e patrocinato dalla Facoltà di Medicina Veterinaria. L'organizzazione del workshop EAFP è affidata da diversi anni a D. Bruno, B. Novak e D. Elliott, i quali hanno efficacemente diretto i lavori, a cui hanno partecipato 30 soci EAFP, provenienti dall'Europa (Regno Unito, Norvegia, Finlandia, Olanda, Danimarca, Svizzera, Spagna, Italia), Stati Uniti, Sud America (Argentina e Cile), Israele, Australia.
L'organigramma ha previsto una relazione di apertura affidata a Trygve T. Poppe, della Norwegian School of Veterinary Science di Oslo (Norvegia), che ha riepilogato gli aspetti macro- e microscopici dell'apparato cardiovascolare, trattando, successivamente, gli agenti patogeni infettivi (virus, batteri, parassiti, funghi) che inducono alterazioni patologiche in questo distretto organico. La struttura sistematica della dissertazione ha illustrato anche le malformazioni e/o anormalità morfologiche, tra cui le alterazioni della forma su matrice dietetica. Al termine di questa prima parte, si sono susseguite le dissertazioni sulla casistica cardiovascolare, presentate da 14 iscritti, alcuni dei quali avevano fornito i preparati istologici, visionabili al microscopio ottico durante la presentazione. In totale sono stati discussi 20 casi che hanno mostrato alterazioni patologiche al sistema cardiovascolare ad eziologia virale (malattia pancreatica dei salmonidi e un caso di sospetta virosi in rombo), batterica (foruncolosi, streptococcosi e nocardiosi), parassitaria (infestazione da trematodi digenei e mixosporidiosi), micotica (ittiofoniasi), genetica, neoplastica e dietetica. Inoltre sono stati illustrati un caso patologico associato alle tecniche di allevamento e altri senza una chiara eziologia (eziologia sconosciuta).
Il workshop, che si è dipanato sull'intera giornata, è apparso interessante, dinamico e ricco di spunti per la discussione tra esperti istopatologici del settore. Tuttavia, a dispetto del titolo dato al workshop (Cardiovascolar pathology), la trattazione del dr. Poppe e la casistica discussa degli altri oratori hanno riguardato quasi esclusivamente il cuore (ben poco di vascolare) e riferita soprattutto a salmonidi.
In chiusura sono state formulate e raccolte alcune proposte (cute, malattie nutrizionali, apparato renale) per il futuro workshop di istopatologia che si terrà a Praga nel 2009.

AGGIORNAMENTI IN IMMUNOLOGIA E PROFILASSI VACCINALE NELLE SPECIE ITTICHE. SINTESI DEI RISULTATI ESPOSTI ALLA 13° CONFERENZA EAFP DI GRADO.

Volpatti D.

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

Nel corso della recente conferenza internazionale EAFP di Grado, tenutasi dal 17 al 22 settembre 2007, sono stati presentati 127 comunicazioni orali e 222 poster. Anche quest'anno una discreta parte dei lavori scientifici verteva su tematiche inerenti la vaccinazione e lo studio della risposta immunitaria nelle specie ittiche (17% tra presentazioni orali e poster).
Il tema **vaccinazione** è stato introdotto dal Dr. Patrick Smith, ripercorrendo brevemente le tappe che, nell'ultimo trentennio, hanno portato dalla sperimentazione alla registrazione, e diffusione commerciale, di numerosi vaccini destinati all'acquacoltura. Oggetto di trattazione in quest'ambito è stata anche l'introduzione di metodiche biotecnologiche, mutuate dalla produzione dei vaccini per uso umano e/o veterinario. I contributi scientifici presentati nel corso del convegno riguardavano prevalentemente la vaccinazione per le malattie batteriche, alcune delle quali considerate riemergenti, mentre erano pochi i lavori dedicati alla vaccinazione per le malattie virali (necrosi pancreatica infettiva ed encefalo-retinopatia virale) o parassitarie (malattia proliferativa renale). Gli aspetti innovativi che possono essere menzionati al proposito sono stati l'utilizzo della vaccinazione a DNA oppure di antigeni prodotti con tecniche ricombinanti, somministrati in genere tramite iniezione, e la valutazione dell'efficacia di tali vaccini non solo in termini di protezione (challenge) ma anche in termini di regolazione dell'espressione genica relativamente a citochine pro-infiammatorie (IL-1β, IL-6, IL-8) o immunoglobuline. Sono invece mancati contributi scientifici riguardanti l'impiego di vaccini orali, che avevano maggiormente caratterizzato le edizioni precedenti del convegno.
In merito allo studio della **risposta immunitaria**, degne di menzione sono alcune indagini finalizzate a valutare aspetti di immunità innata quali: l'attività del lisozima nei tessuti di varie specie ittiche (*Cyprinus carpio, Dicentrarchus labrax, Gadus morhua, Oreochromis niloticus, Oncorhynchus mykiss, Salmo salar*); la presenza di sostanze ad attività antibatterica, o chemiotattica nei confronti dei batteri, a livello del muco; la distribuzione tissutale, il ruolo funzionale e il significato in termini evolutivi di popolazioni cellulari come i mastociti (EGCs/MCs). L'espressione di geni per citochine pro-infiammatorie, chemiochine, o per le proteine di fase acuta (APP) è stata oggetto di indagine in varie specie ittiche (*S. salar, P. olivaceus, O. mykiss*), cosi come la struttura di alcune di queste molecole, con l'intento di valutarne il ruolo nel corso dell'infiammazione, l'espressione nei vari tessuti dopo stimoli da parte di agenti infettivi o vaccini, la possibilità della loro sintesi in forma ricombinante. L'impiego di sostanze immunostimolanti è stato tema di pochi contributi scientifici, suggerendo un minore interesse nei confronti di questa tematica.
Anche se da una valutazione complessiva risulta che circa la metà delle ricerche descritte sono studi di base, di utilità non immediata nella profilassi delle malattie in acquacoltura, va comunque considerata la loro rilevanza ai fini di un approccio più moderno alla vaccinazione delle specie ittiche. Il clonaggio di geni correlati alla risposta immunitaria dei pesci potrà consentire lo sviluppo di strumenti (marcatori) in grado di definire più precisamente la risposta immunitaria post-infezione e post-vaccinazione. Inoltre lo studio dei geni di alcune citochine che hanno un ruolo chiave nella modulazione della risposta immunitaria dei teleostei, suggerisce il potenziale impiego di tali molecole come adiuvanti, come proteine

ricombinanti alternative a vaccini convenzionali, oppure come geni clonati inseriti in vettori usati per la vaccinazione a DNA.
In quest'ottica, implementare l'efficacia di procedure vaccinali alternative, è un obiettivo futuribile ma laborioso da raggiungere.

TOSSICOLOGIA DEGLI ANIMALI ACQUATICI: STUDI DI TOSSICITÀ, PROGRAMMI DI MONITORAGGIO ED EPISODI DI MORTALITÀ

Paolini A.

Istituto Zooprofilattico dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale" – Teramo

Sono riportate le sintesi dei lavori presentati al 13° congresso dell'European Association Fish Pathologists (EAFP - Grado 19-21 settembre 2007) relativi a tematiche di tossicologia, la branca della medicina che studia i sintomi, i meccanismi ed i trattamenti delle patologie causate da veleni, sostanze che esercitano i loro effetti dannosi, temporanei o permanenti, letali o meno, attraverso un meccanismo chimico.
All'EAFP su queste tematiche ci sono state 3 presentazioni orali e 18 poster; tutte le presentazioni orali e 9 poster hanno riferito i risultati di monitoraggi effettuati su pesci pescati o allevati, 9 poster hanno trattato studi di tossicità in vivo mentre 1 poster ha riportato un episodio di mortalità di siluro.
Gli argomenti trattati sono schematizzati nella tabella che segue.
I riassunti sono consultabili nell'abstracts book del congresso reperibile in rete al sito EAFP http://www.eafp.org/index.php?option=com_content&view=article&id=51&Itemid=39.
Per facilitarne la consultazione in tabella sono riportati i codici di identificazione dei lavori.
Episodi di mortalità legati a cause tossiche si verificano con frequenza crescente nei nostri fiumi ma nella maggior parte dei casi non si riesce ad individuare la sostanza responsabile.
Per migliorare gli interventi diagnostici è necessaria una sinergia tra gli operatori coinvolti (Corpo Forestale, Agenzia Regionale Tutela Ambiente, Polizia Provinciale, Servizi Veterinari, Istituti Zooprofilattici); il compito non sempre è agevole, ma va perseguito considerando il grave danno costituito dalla perdita degli animali, l'importanza di questi episodi come segnale di allarme della situazione ambientale e l'impatto sull'opinione pubblica.

Codice EAFP abstracts book	Tipologia di ricerca	Nazionalità Autori	Specie ittica	Sostanza tossica o aspetto indagato	Parametri
O-56	Monitoraggio	Spagna	Anguilla	Influenza metalli pesanti su riproduzione e sensibilità ai patogeni	Metalli pesanti, es. batteriologici e parassitologici
O-57	Monitoraggio	Regno Unito	Mitili	Rapporto tra inquinamento e salute dei mitili, influenza della Specie	Identificazione di specie mediante biologia molecolare, es. istologico
O-58	Monitoraggio	Norvegia	Salmonidi	Tumori intestinali	Es. anatomopatologico ed istologico
P-83	Monitoraggio	Canada	salmonidi	Salute e migrazione	Telemetria, es .batteriologico ed ematologico
P-90	Monitoraggio	Slovenia	Temolo	Decremento nella popolazione	Metalli pesanti, es. batteriologico, virologico, PCR
P-94	Episodio mortalità	Regno Unito	Siluro	Cause mortalità	Es. batteriologico, virale, parassitologico
P-140	Studio di tossicità	Egitto	Pesce gatto	Glyphosate	LC50, es. istologico, aberrazioni cromosomiali, pattern biochimici detossicazione
P-141	Studio di tossicità	Turchia	Trota	Methiocarb, Endosulfan	Es.istologico
P-142	Studio di tossicità	Spagna	Trota	Effetti acidità acqua su cute	Es. microscopia elettronica, es. istologico

Codice EAFP abstracts book	Tipologia di ricerca	Nazionalità Autori	Specie ittica	Sostanza tossica o aspetto indagato	Parametri
P-143	Studio di tossicità	Egitto	Tilapia	Effetti acidità e conseguente mobilizzazione alluminio	Es. istologico
P-144	Studio di tossicità	Svezia	Spinarello	Scarichi contenenti distruttori endocrini	Vitellogenina, spiggina; es. istologico
P-145	Monitoraggio	Spagna	Triglia, Linguattula	Esame istologico e parassitologico come biomarker	Es. istologico e parassitologico
P-146	Monitoraggio	Arabia Saudita	Pesci mercato ittico	Deformità scheletriche	Es. anatomopatologico
P-147	Studio di tossicità	Rep. Ceca	trota	Nitriti	Es. ematologico ed ematochimico, es. istologico
P-148	Monitoraggio	Norvegia	salmone	Tumori intestinali	Es. istologico, contaminanti (diossine, PCB, pesticidi clorurati, metalli pesanti, amine piogene, micotossine)
P-150	Monitoraggio	Spagna	Triglia, nasello, cappellano	Relazione tra "enigmatic bodies" branchiali ed inquinamento	Es. istologico
P-151	Studio di tossicità	Rep. Ceca	Gobione	Estratti cianobatteri	Studio embriotossicità, aberrazioni cromosomiali, es. ematologico, glutatione-trasferasi, es. istologico
P-152	Studio di tossicità	Rep. Ceca	Carpa	Estratti cianobatteri	Studio embriotossicità, glutatione-trasferasi, LDH
P-156	Monitoraggio	Rep. Ceca	Cavedani	Distruttori endocrini	Vitellogenina, chetosterone, P450, EROD, metalli pesanti, POPs
P-157	Monitoraggio	Finlandia		Tumori	Es. anatomopatologico ed istologico
P-159	Monitoraggio	Grecia	Spigole, orate	Rame (prodotti antialghe)	Dosaggio rame in acqua e sedimenti, es. anatomopatologico, ematologico ed istologico sui pesci
P-160	Studio di tossicità	Rep. Ceca	Cavedani	Estradiolo, testosterone	Vitellogenina e chetosterone nei tessuti, es. istologico gonadi

ASPETTI PATOLOGICI NEI MOLLUSCHI

Tiscar P.G.

Università degli Studi di Teramo – Dipartimento di Scienze Biomediche Comparate

Gli ultimi prodotti dalla ricerca internazionale nell'ambito delle patologie dei molluschi hanno coinvolto differenti problematiche legate innanzi tutto alla Bonamiosi e Marteiliosi delle ostriche piatte.
Relativamente alla Bonamiosi, l'adozione di tecniche di ricerca più avanzate come la citometria a flusso o tecniche di biologia molecolare hanno permesso di meglio conoscere le interazioni cellula parassita; inoltre, la possibile presenza di ulteriori ospiti o carriers del protozoo pone non indifferenti problemi in sede di applicazione normativa ed è in questo senso che sono condotti studi per valutare la diffusione della patologia così come studi sulle metodologie diagnostiche.
La Marteiliosi appare ancora poco conosciuta relativamente al ciclo del protozoo coinvolto i cui possibili ospiti intermedi devono ancora essere definiti nella loro completezza.
Le patologie batteriche dei molluschi appaiono approfondite nell'ambito della sindrome dell'anello bruno di *Ruditapes philippinarum* così come nello svilupparsi di mortalità di vongole, ostriche concave o abaloni.
Le patologie dei molluschi a eziologia virale hanno affrontato soprattutto la diagnostica e la patogenesi dell'Herpesvirosi delle ostriche concave.
Ulteriori approfondimenti sono stati messi in atto nei confronti di episodi morbosi relativi a ostriche perlifere, vongole come *Macoma balthica* e *Venerupis aurea* e abaloni.
Risultano oggetto di studio, infine, alcuni aspetti relativi ai sistemi di difesa dei molluschi.

AGGIORNAMENTI SULL'IMPATTO DELLA PERKINSOSI SULLA MOLLUSCHICOLTURA EUROPEA"

Ceschia G.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie – Basaldella di Campoformido (UD)

SANITÀ IN ACQUACOLTURA: UN IMPEGNO PER L'API

Bronchini S.

Associazioni Piscicoltori Italiani – Verona

INDICE

AUTORI

Abete M.C. 23, 24, 29, 30
Agnetti F. 14
Alborali L. 12, 22, 27
Andrighetto C. 21
Aquaro G. 27
Arcangeli G. 11, 20, 21
Arsieni P. 19
Audino V. 13
Basile F. 15, 25, 26
Beraldo P. 15, 25, 26, 36
Bianco I. 17
Boncio L. 14
Borghesan F. 10
Bottalico A. 30
Bovo G. 10, 11, 20, 21, 32
Bozzetta E. 13
Brizzi G. 25
Bronchini S. 42
Bulfon C. 15, 26
Caffara M. 25
Calzetta A. 17
Cappellozza E. 10
Cari R. 14
Cargini D. 17
Cascone V. 25
Cervellione F. 12
Ceschia G. 42
Contessi B. 15, 26
Corrain G. 20, 21
Dörr A.J.M. 29
Elia A.C. 29
Fasolato L. 11, 20, 21
Fioravanti M.L. 15, 16, 25, 26, 28, 35
Florio D. 25
Forneris G. 23
Gaglio G. 28
Galeotti M. 15, 26
Galli P. 27
Gasparri F. 13
Gelmetti D. 12, 27
Ghittino C. 14
Giaccone V. 24
Giordana G. 19
Giorgi I. 13, 19, 23, 24
Gramaglia M. 30
Gobbo F. 10
Grund H. 16
Guarise S. 23, 28
Gustinelli A. 16, 25, 28
Lanni L. 17
La Porta G. 29
Lunelli F. 11
Manfrin A. 11, 20, 21, 34
Marcer F. 25
Merlo N. 11
Moda G. 19
Mosca F. 17
Narcisi V. 17
Natali M. 29
Pacini N. 29

Paladini G. **28**

Paolini A. **39**

Papini M. **14**

Pascale M. **23**

Pennelli D. **22**

Pezzolato M. **13**

Pircher A. **16**

Prearo M. **13, 14, 19, 20, 21, 23, 24, 28, 29, 30**

Quaglio F. **16**

Quartesan R. **10**

Rogato F. **30**

Rossi F. **24**

Rosteghin M. **11, 20, 21**

Salati F. **12**

Salogni C. **12, 22, 27**

Santamaria F. **25**

Scalas D. **30**

Squadrone S. **30**

Stifter E. **16**

Tagliabue S. **22**

Taticchi M.I. **29**

Tiscar P.G. **17, 41**

Varello K. **13**

Vignetta P. **19**

Volpatti D. **15, 25, 26, 37**

Zanoni M. **12**

Zanoni R.G. **24**

Zoppi S. **24**