

## **Infezione da *Vibrio harveyi* in cavallucci marini (*Hippocampus* sp.) con concomitante condizione di struma tiroideo**

*Vibrio harveyi* infection in seahorse (*Hippocampus* sp.)  
with concomitant condition of thyroid struma

**Gian Enrico Magi<sup>1\*</sup>, Vincenzo Cuteri<sup>1</sup>, Sabrina Repetto<sup>2</sup>,  
Lara Fichtel<sup>2</sup>, Giacomo Rossi<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Università di Camerino, Facoltà di Medicina Veterinaria, Dipartimento di Scienze Veterinarie;  
Via Circonvallazione 93/95 – 62024 Matelica (MC); <sup>2</sup> Parco Marino Oltremare – 47036 Riccione

---

**RIASSUNTO** - Nel presente lavoro viene riportato un episodio di mortalità a stillicidio in *Hippocampus erectus* e *Hippocampus kuda* mantenuti in un acquario pubblico nazionale. I pesci risultavano infetti da *Vibrio harveyi* e manifestavano allo stesso tempo una condizione di struma tiroideo. *V. harveyi* è un batterio tipico degli ambienti acquatici marini tropicali e alcuni ceppi sono patogeni per diversi organismi acquatici in condizioni di allevamento. I pesci colpiti manifestavano inscurimento cutaneo, dimagrimento, presenza di aree di depigmentazione cutanea, a volte ulcerate e marcato rigonfiamento della camera branchiale. La necropsia ha mostrato la presenza nella camera branchiale di un tessuto esofitico, dalla consistenza molle, ricoprente in parte gli archi branchiali. L'esame batteriologico ha permesso l'isolamento in purezza dalla cute, dal rene e dal fegato di un ceppo batterico identificato fenotipicamente come *Vibrio harveyi*. L'esame istologico delle strutture branchiali ha evidenziato un processo iperplastico tiroideo, riconducibile ad uno struma parenchimatoso e caratterizzato da aspetto pseudosolido del parenchima ghiandolare, frammisto ad aree follicolari a contenuto colloide, spesso con aspetto di netta iperplasia-proliferazione papillare dell'epitelio. Negli altri organi esaminati si evidenziavano lesioni rapportabili ad una setticemia. L'esame immunohistochimico effettuato su tessuto tiroideo ha evidenziato forte espressione di PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen), Citocheratina 18 e Tiroxina, confermando la presenza di uno struma in fase di attiva proliferazione. Recentemente nei cavallucci marini sono stati riportati episodi morbosi associati a *V. harveyi*; nel nostro caso l'infezione è risultata associata ad una grave condizione di struma tiroideo da carenza di iodio. La disendocrinia potrebbe aver determinato una condizione stressante/immunodeprimente negli animali, predisponente e/o esacerbante la manifestazione del processo infettivo.

**SUMMARY** - Occurrence of an outbreak of chronic mortality among seahorse, *Hippocampus erectus* and *Hippocampus kuda* maintained in a public aquarium is reported. The fish were infected by *Vibrio harveyi* and showed a concomitant condition of thyroid struma. *V. harveyi* is a waterborne bacterium commonly found in marine environments. Some strains are highly pathogenic to aquatic organisms in reared condition. Diseased seahorses showed melanosis, depigmentate and ulcerative skin lesions and marked swelling of gill chamber. At necropsy the presence of an exophytic tissue covering the gill arches was noticed. A bacterium identified as *Vibrio harveyi* was obtained in pure culture from samples of skin lesions, liver and kidney using both conventional bacteriological test and API 20NE system. Histological examination showed a parenchymatous thyroid struma characterized by intense areas of hyperplasia with pseudosolid aspect among follicular colloid areas. By immunohistochemistry high expression of PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen), Cytokeratin 18 and thyroxin in thyroid tissue was recorded, confirming the high proliferating characteristic of the pathology. In the other organs a septicaemic condition was ascertained. Recently two reports of disease caused by *V. harveyi* in seahorse were described. In our case the pathology was associated with a concomitant condition of thyroid struma probably due by iodine deficiency. The endocrine dysfunction could have cause a immunodepression condition predisponent for the occurrence of the outbreak.

**Key words** : Seahorse, *Hippocampus* sp., Pathology, *Vibrio harveyi*.

---

\* Corresponding author: c/o Dipartimento di Scienze Veterinarie, Sezione di Patologia Animale, Profilassi e Igiene degli Alimenti; Via Circonvallazione 93/95 – 62024 Matelica (MC). Tel.: 0737/403424; Fax: 0737-403402; E-mail: gianenrico.magi@unicam.it.

## INTRODUZIONE

I cavallucci marini, appartenenti alla famiglia dei Syngnathidae, sono storicamente tra i pesci più popolari e interessanti per via delle loro peculiari caratteristiche biologiche ed ecologiche. Al mondo esistono 33 specie variamente distribuite nelle acque costiere poco profonde; molte di esse sono seriamente minacciate di estinzione a causa dell'inquinamento del loro ambiente naturale e a causa della pesca eccessiva condotta al fine di soddisfare la richiesta del mercato acquariologico e di quello della medicina tradizionale cinese che attribuisce a questi animali poteri terapeutici e afrodisiaci. In base alle stime più recenti si è assistito in alcune aree del continente asiatico ad una diminuzione di circa il 50% della popolazione naturale (Hilomen-Garcia, 1999). In questi ultimi anni diverse iniziative sono state intraprese al fine di evitare l'estinzione di queste specie sia attraverso progetti di conservazione dell'ambiente marino che di riproduzione e allevamento in cattività in molti acquari pubblici; inoltre dal 2002 tutte le specie sono state incluse nell'appendice II della CITES (Convention on International Trade in Endangered) per la regolamentazione della pesca e della vendita.

Nel presente lavoro viene riportato un episodio di mortalità a stilloidismo in *Hippocampus erectus* e *Hippocampus kuda* mantenuti in un acquario pubblico nazionale. I pesci risultavano infetti da *Vibrio harveyi* e manifestavano allo stesso tempo una condizione di struma tiroideo. Negli ultimi anni sono stati descritti episodi morbosi sostenuti da *V. harveyi* in cavallucci marini mantenuti in cattività (Alcaide *et al.*, 2001; Tendencia, 2004). *V. harveyi* è un batterio tipico degli ambienti acquatici marini tropicali e alcuni ceppi sono patogeni per diversi organismi acquatici in condizioni di allevamento. In letteratura condizioni patologiche primariamente attribuite a *V. harveyi* sono state descritte nei gamberi *Penaeus* spp. (Karunasagar *et al.*, 1994), nell'aragosta *Panulirus homarus* (Jawahar *et al.*, 1996), nell'ostrica *Pinctata maximus* (Pass *et al.*, 1987) e in diverse specie ittiche (Zhang & Austin, 2000). Attualmente, stante l'accettazione che *V. harveyi* sia un sinonimo di *V. trachuri* (Thompson *et al.*, 2002) e di *V. carchariae* (Pedersen *et al.*, 1998), la lista dei pesci sensibili a questo germe si è allargata anche al sugarello, *Trachurus japonicus* (Ywamoto *et al.*, 2005) e allo squalo grigio, *Carcharhinus plumbeus* (Bertone *et al.*, 1996). Anche se con una frequenza molto minore rispetto alle lesioni indotte da infezioni batteriche, in letteratura vengono descritti numerosi casi di iperplasia tiroidea/gozzo nei pesci di mare sia allevati che selvatici, in conseguenza di condizioni di carenza di iodio o di presenza di sostanze ad azione gozzigena (Ferguson, 1989).

## MATERIALI E METODI

Tra Aprile e Giugno 2005 sono pervenuti nel nostro laboratorio 5 esemplari adulti di cavalluccio marino, di cui tre appartenenti alla specie *Hippocampus erectus* e due alla specie *Hippocampus kuda*, in seguito ad episodi di mortalità a stilloidismo che si protraevano da alcuni mesi. Gli esemplari provenivano da un acquario pubblico nazionale dove erano mantenuti a scopo riproduttivo. I soggetti appartenenti alla specie *H. erectus* erano nati in cattività mentre quelli di *H. kuda* erano stati importati circa sei mesi prima. Ogni specie era stabulata in vasche di 1500 litri ciascuna funzionante con un sistema chiuso di filtrazione e disinfezione dell'acqua, ad una concentrazione di circa 50 soggetti per vasca. L'alimentazione veniva fornita quattro volte al giorno e consisteva in mysis congelato e artemie vive. L'anamnesi clinica riferiva di inappetenza, inscurimento, letargia, difficoltà respiratoria e forte rigonfiamento della camera branchiale. In alcuni soggetti si poteva osservare la presenza di aree più o meno estese di depigmentazione cutanea a volte ulcerate.

I soggetti pervenuti al nostro laboratorio in fase agonica, sono stati sottoposti ad esame anatomopatologico, parassitologico, batteriologico ed istologico. Gli esami batteriologici venivano effettuati a partire da lesioni cutanee, rene, fegato, cervello e branchie su Tryptone Soya Agar (Oxoid) addizionato con NaCl all'1% (TSA-1), su Thiosulphate Citrate Bile Salts (TCBS, Oxoid) e su *Flexibacter maritimus* Medium (FMM) (Pazos *et al.*, 1996). Le piastre venivano incubate a 22° C per 48 h e le colonie isolate venivano identificate sia attraverso l'impiego di tecniche in macrometodo standard al fine di evidenziare le caratteristiche morfologiche, fisiologiche e biochimiche dei batteri, sia attraverso il sistema di identificazione miniaturizzato API 20NE (bioMérieux, France). Per l'esame istologico porzioni di branchie, fegato, rene, cute e cervello venivano fissate in formalina neutra tamponata al 10% ed incluse in paraffina; sezioni dello spessore di 4 µm venivano colorate con Ematossilina Eosina (EE), Giemsa (G) e Alcian-PAS (AP). Su sezioni di tessuto tiroideo veniva condotto un esame immunoistochimico attraverso tecnica perossidasi impiegando anticorpi specifici per PCNA (Proliferative Cell Nuclear Antigen, Novocastra), Citocheratina 5 (Novocastra), Citocheratina 18 (Novocastra) e Tiroxina (Dako, Carpinteria).

## RISULTATI

Macroscopicamente i pesci esaminati si presentavano debilitati, inscuriti e tre di essi presentavano lesioni cutanee depigmentate a carattere ulcerativo (figura 1). In tutti i soggetti si apprezzava un marcato rigonfiamento della camera branchiale (figura 2). L'apertura della cavità celomatica non evidenziava lesioni viscerali macroscopiche, mentre la camera branchiale mostrava un tessuto esofitico, dalla consistenza molle, ricoprente in parte gli archi branchiali. L'esame microscopico a fresco effettuato dai raschiati cutanei e branchiali e da preparati allestiti per impressione da intestino, fegato e rene ha dato esito negativo. L'esame batteriologico ha permesso l'isolamento in purezza di colonie cremose su TSA-1 e di colonie verdi su TCBS da tutti gli organi ad eccezione del cervello. In base alle caratteristiche morfologiche, fisiologiche e biochimiche le colonie sono state identificate come *Vibrio harveyi* non luminescente. Il profilo fenotipico dei ceppi è stato confrontato con il ceppo di riferimento e con altri ceppi isolati in precedenza in corso di episodi di mortalità in cavallucci marini attribuiti a *V. harveyi* (tabella 1). Dall'esame dei profili è stato possibile riscontare una corrispondenza tra i ceppi, nonostante per alcune prove sia stata osservata una certa variabilità, come ad esempio per l'utilizzo del saccarosio e del mannosio e per la luminescenza. L'utilizzo della galleria API 20NE ha infine permesso di ottenere un profilo identico a quello del ceppo di riferimento ATCC 14126 (numero di codice 7477745). Il ceppo è risultato sensibile alla sulfadimetossina-trimpethoprim, al cloramfenicolo, all'enrofloxacin, alla flumequina, mentre è risultato mediamente sensibile all'amoxicillina-acido clavulanico, al furazolidone, all'ossitetraclina e resistente all'eritromicina e alla kanamicina.

L'esame istologico ha permesso di evidenziare la presenza di un processo proliferativo in senso iperplastico del parenchima tiroideo (figura 3). A carico della ghiandola si osservava infatti tessuto costituito da caratteristiche lacune a contenuto colloide, spesso alterato nella morfologia e nel colore, bordate da epitelio quasi mai ben differenziato e cubico, frammiste ad aree di netta iperplasia in senso papillare delle strutture epiteliali. A livello del parenchima renale era osservabile la presenza di un diffuso infiltrato linfoide che tendeva ad invadere il parenchima dell'organo, cancellando a tratti la componente tubulare (figura 4). Erano osservabili inoltre, frammiste ai focolai intraparenchimali di flogosi, microaree di necrosi carioretica delle cellule linfoidi stesse. A livello epatico si poteva osservare una forte condizione patologica caratterizzata da necrosi a focolaio con fenomeni degenerativi

TEST	Ceppi isolati (n = 4)	Alcaide <i>et al.</i> (2001)	Tendencia (2004)	Vibrio harveyi ATCC 14126
Gram	-	-	-	-
Morfologia	B	+	B	B
Motilità	+	+	+	+
Ossidasi	+	+	+	+
Catalasi	+	+	+	+
Sensibilità O/129 (150 µg)	S	S	S	S
Crescita su T.C.B.S.	+V	+G	+V	+G
O/F	F	F	F	F
ADH	-	-	-	-
LDH	+	+	+	+
ODC	+	+	+	+
ONPG	-	-	ND	-
Gas glucosio	-	ND	ND	-
Indolo	+	+	+	+
V.P.	-	-	-	-
Nitrato	+	+	+	+
Citrato	+	+	+	+
Urea	-	-	ND	-
Gelatinasi	+	ND	+	+
Lipasi	+	ND	+	+
Esculina	+	ND	ND	+
Amilasi	+	ND	+	+
Luminescenza	-	-	-/+	+
Acidificazione con:				
Arabinosio, Inositolo, Ramnosio, Sorbitolo	-	-	ND	-
Saccarosio	-	+	-	+
Mannitolo	+	+	ND	+
Mannosio	+	-	ND	-
Unica fonte di carbonio:				
Cellobiosio	+	+	+	+
T° di crescita:				
4° C	-	-	-	-
28° C	+	+	+	+
37° C	+	+	+	+
Salinità:				
0%	-	-	-	-
1-2%	+	+	+	+
6%	+	+	+	+
>8%	-	-	-	-
Codice API 20NE	7477745	7474445	ND	7477745

Legenda:

(+) positivo; (-) negativo; B: bastoncello; S: sensibile; G: colonie gialle; V: colonie verdi; F: fermentante; ND: test non determinato.

Tabella 1 – Caratteristiche fenotipiche di *Vibrio harveyi* isolato da *Hippocampus* sp. comparato con il ceppo di referenza e con i ceppi precedentemente isolati da *Hippocampus* sp.

Table 1 – Phenotypic characteristics of the *Vibrio harveyi* strain isolated from *Hippocampus* sp. compared with reference strain and strains previously isolated from *Hippocampus* sp.

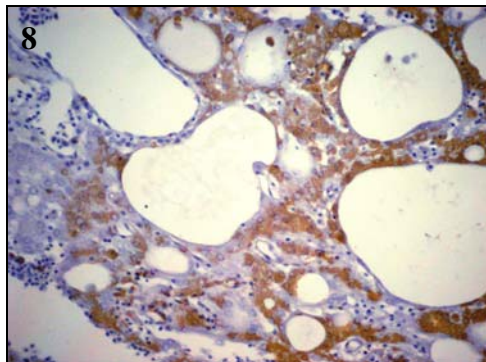
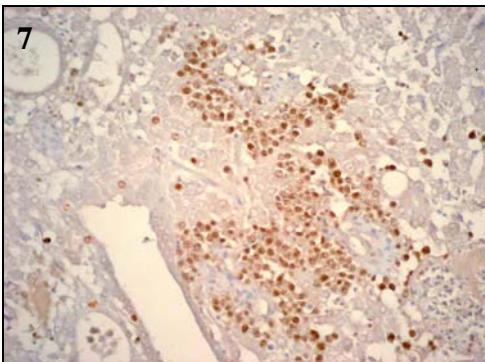
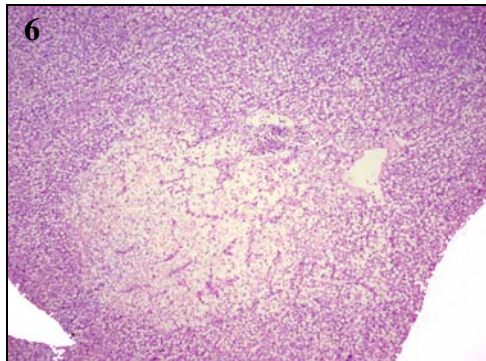
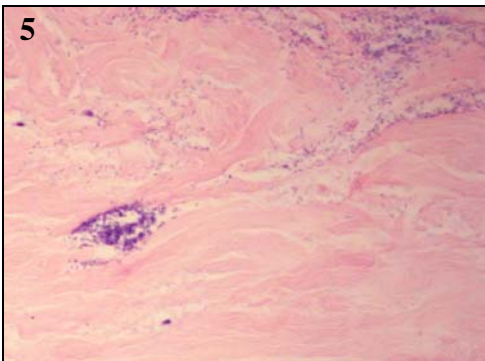
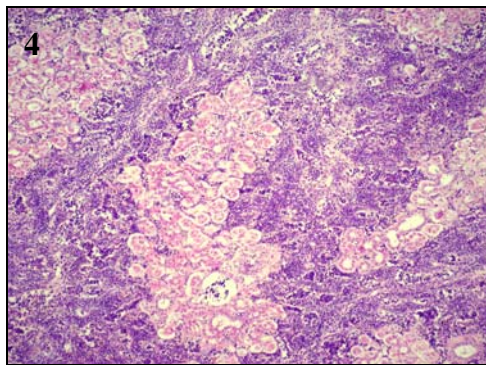
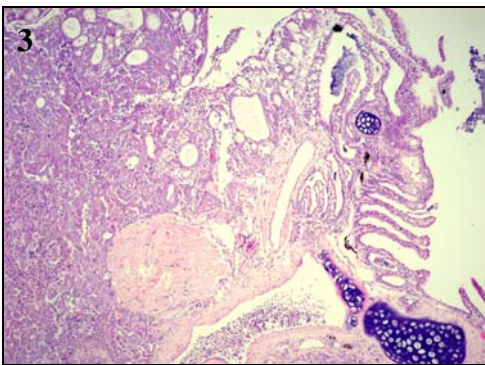


Tavola 1 – Figura 1: Cavalluccio marino (*Hippocampus erectus*) con area di depigmentazione cutanea. Figura 2: cavalluccio marino (*Hippocampus erectus*) con forte rigonfiamento della camera branchiale. Figura 3: tessuto tiroideo iperplastico a ridosso del tessuto branchiale (E.E., 10 x). Figura 4: tessuto renale: focolai intraparenchimali di flogosi con microaree di necrosi carioretica delle cellule linfoidi (E.E., 20 x). Figura 5: presenza di batteri disposti a clusters nel tessuto muscolare contiguo alle lesioni cutanee (E.E., 40 x). Figura 6: focolaio di necrosi epatica (E.E., 20 x). Figura 7: immunolocalizzazione di cellule positive a PCNA in tessuto tiroideo, attestanti un'intesa proliferazione (40 x). Figura 8: immunolocalizzazione di cellule del tessuto tiroideo positive a Citocheratina 18 (40 x).

Plate 1 - Figure 1: seahorse (*Hippocampus erectus*) with depigmented skin area. Figure 2: seahorse (*Hippocampus erectus*) with marked swelling of the gill chamber. Figure 3: hyperplastic thyroid tissue close to gill tissue (E.E., 10 x). Figure 4: kidney: foci of inflammation in the interstitium with areas of carioretic necrosis (E.E., 20 x). Figure 5: clusters of bacteria in the muscular tissue (E.E., 40 x). Figure 6: focus of necrosis in the liver (E.E., 20 x). Figure 7: immunostain for PCNA in thyroid tissue (40 x). Figure 8: immunostain for Cytokeratin 18 in thyroid tissue (40 x).



epatocellulari di tipo torbido-grasso circoscriventi e con grave coinvolgimento delle cellule di Ito oltreché della *pars* pancreatica (figura 6). L'esame istologico delle masse muscolari contigue alle lesioni cutanee metteva in evidenza la presenza di clusters batterici caratterizzati da batteri bastoncellari leggermente ricurvi (figura 5).

L'esame immunoistochimico effettuato su campioni di tessuto tiroideo ha evidenziato la forte espressione di PCNA (figura 7) soprattutto nelle aree più "solide" del parenchima, nonché di Citocheratina 18 (figura 8) nelle aree follicolari; al contrario la Citocheratina 5 è risultata negativa, confermando la diagnosi di struma in fase di attiva proliferazione e l'assenza di metaplasia squamosa negli elementi epiteliali ghiandolari proliferanti. Ciò nonostante, le aree di tessuto tiroideo non marcate dalla Citocheratina 18, apparivano caratterizzate da un certo grado di anaplasia cellulare contraddistinta dalla presenza di cellule pleomorfe e a nucleo/nucleoli difformi.

Le indagini microbiologiche, anatomopatologiche ed immunoistochimiche condotte hanno permesso di emettere la diagnosi di infezione da *Vibrio harveyi* in forma generalizzata accompagnata a struma tiroideo di tipo parenchimoso. L'episodio infettivo è stato controllato attraverso opportuna terapia antibiotica, mentre per la condizione tiroidea è stato applicato un protocollo integrativo di iodio attraverso soluzione di Lugol nell'acqua (1 ml per 1000 l) e di ioduro di potassio (KI) nell'alimento.

## DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Sebbene l'interesse verso i cavallucci marini in cattività sia fortemente cresciuto negli ultimi anni, soprattutto per quel che concerne la riproduzione, ancora poco conosciute sono le patologie che possono affliggere queste specie ittiche in ambienti confinati. I cavallucci marini sono animali molto sensibili all'ambiente in cui vivono e per tale ragione vengono considerati indicatori biologici dello stato di qualità dell'ambiente marino. In condizioni di cattività è necessario fornire un ambiente ottimale il più simile possibile a quello naturale; diversamente questi animali deperiscono. Una delle problematiche principali inerenti il mantenimento di queste specie in condizioni forzate è l'alimentazione che non sempre risulta adeguata e che può portare a delle carenze tali da compromettere la sopravvivenza o da predisporre gli animali all'aggressione di vari agenti patogeni. Per quanto riguarda le problematiche sanitarie che possono verificarsi in condizioni di cattività in queste specie, in letteratura sono stati descritti casi di mortalità per infezioni batteriche sostenute da *Vibrio harveyi*, patogeno già conosciuto come agente di malattia in molti organismi acquatici,

(Zhang & Austin, 1999; Alcaide *et al.*, 2001; Tendencia, 2004) e da *Tsukamurella paurometabola* e *Vibrio alginolyticus* in *Hippocampus barbouri* (Florio *et al.*, 2004). La vibriosi è una malattia batterica molto comune e grave fra gli organismi marini allevati, siano essi invertebrati che vertebrati; varie specie di *Vibrio* sono responsabili di questa patologia, alcune agendo primariamente, altre in maniera opportunistica. Lo stesso *V. harveyi* viene considerato altamente patogeno soprattutto per molti invertebrati acquatici in maniera particolare per i gamberi peneidi allevati (Karunasagar *et al.*, 1994; Austin & Austin, 1999; Montero & Austin, 1999). Anche nel nostro caso negli episodi di mortalità è risultato costante l'isolamento in purezza di *V. harveyi* così come nei casi riportati in letteratura, pur risultando bassa e protratta la mortalità registrata se confrontata con gli episodi precedentemente descritti. La concomitante presenza di gozzo tiroideo manifesta da mesi nei pesci del nostro studio, deve essere considerata un possibile fattore aggravante il processo infettivo. E' infatti noto come condizioni di alterata funzionalità tiroidea possano influenzare la qualità della risposta immunitaria, soprattutto in condizioni di stress (Fabris, 1973; Balutsov, 1990). L'applicazione di un'adeguata terapia antibiotica ha impedito il protrarsi delle mortalità mentre l'integrazione dello iodio, sia nell'acqua sotto forma di soluzione iodo-iodurata, che nella dieta attraverso lo ioduro di potassio (KI), ha bloccato la progressione della patologia tiroidea, ma non ne ha determinato la regressione. Nei pesci marini gli episodi di gozzo tiroideo sono abbastanza frequenti, sia nei soggetti mantenuti in cattività, sia in quelli selvatici. Le cause che possono indurre questa condizione possono essere di natura dietetica o in conseguenza di basse concentrazioni di iodio nell'acqua. Spesso negli acquari operanti con sistemi chiusi si ha una perdita dello iodio che deve essere reintegrata (Gridelli *et al.*, 2003). Anche l'elevata concentrazione di nitrati, tipica degli acquari chiusi, può interferire sull'assorbimento dello iodio e ridurre la produzione di T4 e T3, così come osservato nella trota iridea, *Oncorhynchus mykiss*, nel pesce persico, *Perca fluviatilis* e nella carpa, *Cyprinus carpio* (Lahti *et al.*, 1985). Un'altra importante causa di gozzo è quella di natura tossica ad opera di sostanze inquinanti che possono alterare sia la captazione che il legame dello iodio alla tireoglobulina o che possono agire attraverso il blocco dei recettori tissutali per gli ormoni tiroidei (Moccia *et al.*, 1977; Zhou *et al.*, 2000). Nel nostro caso, trattandosi di animali tenuti in sistemi chiusi con acqua di mare sintetica, è più probabile che l'origine della disendocrinia sia di tipo dietetico, non potendo i pesci assumere dall'acqua una quantità sufficiente di iodio. La mancata regressione della patologia anche in seguito all'integrazione alimentare e ambientale può essere spiegata dal fatto che le aree di tessuto tiroideo fortemente proliferanti, caratterizzate da alta espressione di PCNA, possano aver raggiunto un grado di minor differenziazione (testimoniato dalla concomitante perdita di positività alla Citocheratina 18) perdendo la capacità di rispondere al feed-back negativo esercitato dallo iodio introdotto. Resta comunque interessante il probabile ruolo della protratta disendocrinia nel facilitare l'insorgenza dell'episodio infettivo tramite la determinazione di una condizione immunodeprimente che, in animali stressati, predispone e/o esacerba la manifestazione dell'infezione, di per sé non eccessivamente grave.

## BIBLIOGRAFIA

- Alcaide E., Gil-Sanz C., Sanjuán E., Esteve D., Amaro C. & Silveira L. (2001). *Vibrio harveyi* causes disease in seahorse, *Hippocampus* sp. *J. Fish Dis.*, 24: 311-313.
- Austin B. & Austin D.A. (1999). Bacterial fish pathogens. Diseases of farmed and wild fish. 3<sup>rd</sup> Ed. *Praxis Series in Aquaculture and Fisheries*, Chichester, England: 113.

- Balutsov M. (1990). The effect of thyroid- and parathyroidectomy on stress-induced changes in the primary humoral immune response of white rats. *Eksp. Med. Morfol.*, 29: 55-58.
- Bertone S., Gili C., Moizo A. & Calegari L. (1996). *Vibrio carchariae* associated with a chronic skin ulcer on a shark, *Carcharhinus plumbeus* (Nardo). *J. Fish Dis.*, 19, 6: 429-434.
- Fabris N. (1973). Immunodepression in thyroid-deprived animals. *Clin. Exp. Immunol.*, 15, 4: 601-611.
- Ferguson H.W. (1989). Systemic pathology of fish. *Iowa State University Press, Ames*: 197-201.
- Florio D., Marcer F., Fichtel L., Quaglio F. & Fioravanti M.L. (2004). Isolamento di *Tsukamurella paurometabola* e *Vibrio alginolyticus* da *Hippocampus barbouri* (Barbour's seahorse) stabulati in acquario. *Atti del XI Convegno Nazionale Soc. It. Patol. Ittica, Finale Ligure (SV)*: 26.
- Gridelli S., Diana A., Parmeggiani A., Cipone M. & Preziosi R. (2003). Goitre in large and small spotted dogfish, *Scyliorhinus stellaris* (L.) and *Scyliorhinus canicula* (L.). *J. Fish Dis.*, 26: 687-690.
- Hilomen-Garcia G. (1999). AQD's marine ornamental fish project. *SEAFDEC Asian Aquaculture* 21: 31-38.
- Jawahar A.T., Kaleemur R.M. & Leema J.M.T. (1996). Bacterial disease in cultured spiny lobster, *Panulirus homarus* (Linnaeus). *J. Aquaculture Tropics*, 11: 187-192.
- Karunasagar I., Pai R., Malathi G.R. & Karunasagar I. (1994). Mass mortality of *Penaeus monodon* larvae due to antibiotic resistant *Vibrio harveyi* infection. *Aquaculture*, 128: 203-209.
- Lahti E., Harri M. & Lindqvist O.V. (1985). Uptake distribution of radioiodine, and the effect of ambient nitrate in some fish species. *Compar. Biochem. Physiol.*, 80A: 337-442.
- Moccia R.D., Leatherland J.F. & Sonstegard R.A. (1977). Increasing frequency of thyroid goiters in Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) in the Great Lakes. *Science*, 198 (4315): 425-426.
- Montero A.B. & Austin B. (1999). Characterization of extracellular products from an isolate of *Vibrio harveyi* recovered from disease post-larval *Penaeus monodon* (Bonne). *J. Fish Dis.*, 22: 377-386.
- Pass D.A., Dybadahl R. & Mannion M.M. (1987). Investigations into the causes of mortality of the pearl oyster, *Pinctata maxima* (Jamson), in Western Australia. *Aquaculture*, 65: 149-169.
- Pazos F., Santos Y., Macias A.R., Nunez S. & Toranzo A.E. (1996). Evaluation of media for the successful culture of *Flexibacter maritimus*. *J. Fish Dis.*, 19: 193-197.
- Pedersen K., Verdonck L., Austin B., Blanch A.R., Grimont P.A.D., Jofre J., Koblavi S., Larsen J.L., Tiainen T., Vigneulle M. & Swings J. (1998). Taxonomic evidence that *Vibrio carchariae* Grimes *et al.* 1985 is a junior synonym of *Vibrio harveyi* (Johnson and Shunk 1936) Baumann *et al.* 1981. *Int. J. System. Bacteriol.*, 48: 749-758.
- Tendencia E.A. (2004). The first report of *Vibrio harveyi* infection in the sea horse *Hippocampus kuda* Bleekers 1852 in the Philippines. *Aquaculture Res.*, 35: 1292-1294.
- Thompson F.L., Hoste B., Vandemeulebroecke K., Engelbeen K., Denys R. & Swings J. (2002). *Vibrio trachuri* Iwamoto *et al.* 1995 is a junior synonym of *Vibrio harveyi* (Johnson and Shunk 1936) Baumann *et al.* 1981. *Int. J. System. Evolut. Microbiol.*, 52: 973-976.

Ywamoto Y., Suzuki Y., Kurita A., Watanabe Y., Shimizu T., Ohgami H. & Yanagihara Y. (1995). *Vibrio trachuri* sp. nov., a new species isolated from diseased Japanese horse mackerel. *Microbiol. Immunol.*, 39: 831-837.

Zhang H.-H. & Austin B. (1999). Pathogenicity of *Vibrio harveyi* to salmonids. *J. Fish Dis.*, 23: 93-102.

Zhou T., John-Alder H.B., Weis J.S. & Weis P. (2000). Endocrine disruption: thyroid dysfunction in mummichogs (*Fundulus heteroclitus*) from a polluted habitat. *Marine Environ. Res.*, 50: 393-397.