

PREMIO TESI “S.I.P.I. 2006”

Principali patologie dei Syngnathidae in cattività

The main disease of Syngnathidae in captivity

**Corinne Bombardini¹, Daniela Florio², Lara Fichtel³,
Maria Letizia Fioravanti²**

¹ Corso di Laurea in Acquacoltura ed Ittiopatologia, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Bologna, Sede di Cesenatico; ² Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Università di Bologna, Ozzano Emilia (BO); ³ Medico Veterinario del Parco Oltremare di Riccione (RN)

SUMMARY - The family Syngnathidae includes several species of seahorse, pipefish and seadragon of great interest to the public aquarium industry. Although the scientific knowledge about their biology and husbandry in captivity has been improved in recent years, information on their diseases is still poor. From May 2005 to March 2006 a mixed population of 90 syngnathids housed at an Italian public aquarium were subjected to diagnostic procedure in order to identify the cause of sporadic and/or chronic morbidity and mortality. All the fish were subjected to parasitological, bacteriological and mycological examinations. The results showed a range of opportunistic organisms, highlighting the importance of good management procedures to prevent common diseases of syngnathids. The actual pathogenic role of some parasites, bacteria and mycotic organisms has yet to be investigated. Furthermore, some non infectious diseases, such as Gas Bubble Disease (GBD) and thyroidal disorders were also observed.

Key words: Syngnathids, Diseases, Public aquarium.

INTRODUZIONE

Alla famiglia Syngnathidae appartengono specie appartenenti al gruppo dei cavallucci marini, dei pesci ago e dei dragoni marini (Kuitert, 2003). Questi teleostei sono di estremo interesse commerciale in quanto circa 20 milioni di esemplari vengono pescati ogni anno per il loro utilizzo nella medicina tradizionale cinese e nella fabbricazione di souvenir. L'ingente pressione antropica a cui sono stati sottoposti i singnatidi ha reso necessaria la loro tutela attraverso la regolamentazione del loro commercio. Attualmente tutte le specie di cavallucci sono inserite nell'appendice II del regolamento CITES e numerose specie sono indicate anche nella 'Red List' dell'International Union for Conservation of Nature and Natural Resources (IUCN) stilata nel 2003 (www.redlist.org).

I singnatidi sono inoltre animali molto apprezzati negli acquari pubblici, dove esistono però ancora molteplici problematiche inerenti la loro corretta stabulazione. Le insufficienti conoscenze tecnico-scientifiche sui parametri ambientali e nutrizionali necessari al mantenimento del loro benessere, determinano conseguentemente condizioni stressanti tali da influenzare lo stato di salute di questi animali, peraltro particolarmente sensibili ad ogni

alterazione dell'omeostasi. Inoltre, a causa della carenza di informazioni organiche sulle patologie che possono colpire questi teleostei in cattività, si hanno frequenti difficoltà nell'individuare le opportune strategie di profilassi e controllo da adottare.

Nell'arco di un anno di studio si sono quindi condotte osservazioni sullo stato sanitario dei singnatidi stabulati presso le vasche espositive e presso il settore quarantena di un parco acquatico nazionale, provvedendo a condurre esami diagnostici approfonditi volti ad individuare gli agenti patogeni di maggiore rilievo.

MATERIALI E METODI

Da maggio 2005 a marzo 2006 sono stati sottoposti ad esami parassitologici, batteriologici, micologici ed istologici complessivamente 90 Syngnathidae, in particolare 67 cavallucci marini (34 *Hippocampus erectus* - He, 24 *H. abdominalis* - Ha, 7 *H. zosterae* - Hz, 2 *H. barbouri* - Hb), 21 pesci ago (10 *Syngnathus typhle* - St, 7 *S. scovelli* - Sc, 4 *Syngnathoides biaculeatus* - Sb) e 2 dragoni marini (1 *Phycodurus eques* - Pe - e 1 *Phyllopteryx taeniolatus* - Pt).

L'esame parassitologico a fresco è stato condotto su cute, branchie ed organi interni. Per l'identificazione di protozoi ciliati è stata condotta impregnazione argentea (Klein's method) su raschiati cutanei e branchiali. L'identificazione di metazoi è stata condotta previo isolamento e chiarificazione dei parassiti in glicerina o lattofenolo di Amman.

L'esame colturale per batteri è stato effettuato mediante semina da rene, cervello e/o cute e branchie su Tryptic Soy Agar (TSA) + 2% NaCl, Brain Heart Infusion Agar (BHIA) + 2% NaCl, Blood Agar (BA), Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose Agar (TCBS), *Flexibacter maritimus* Medium (FMM) ed incubazione per 24-48 ore a 25°C ±1.

L'esame colturale per micobatteri è stato condotto omogenando pool di fegato e rene ed inoculandoli su Middlebrook 7H10 e Löwenstein-Jensen (LJM), incubando per 2 mesi a 25°C ±1 e 30°C ±1. Sono state inoltre allestite impronte da cute, branchie ed organi interni colorate mediante metodica di Ziehl-Neelsen classica e modificata per *Nocardia* (Kinyoun). Gli isolati batterici sono stati identificati mediante test fenotipici e sistemi API del commercio (BioMérieux, France) (API 20E, 20NE, ZYM, 20CAUX, 50CH).

Per quanto concerne l'esame micologico, porzioni di cute e branchie sono state seminate su Glucose Yeast Extract +Acido Oxolinico +Penicillina Agar (GY+OX+P) ed incubate per 10 giorni a 18 e 25°C ±1.

L'esame istologico è stato condotto su porzioni d'organo fissate in formalina tamponata al 10% ed incluse in paraffina e le sezioni, dello spessore di 6 µm, sono state colorate con Ematossilina-Eosina (EE), Giemsa (G) e Ziehl-Neelsen (ZN).

RISULTATI

Le osservazioni sanitarie condotte nei singnatidi stabulati presso le vasche espositive e nel settore di quarantena di un parco acquatico nazionale nel corso dell'anno di studio hanno permesso di individuare molteplici patologie ad eziologia parassitaria, batterica, micotica e non infettiva, queste ultime rappresentate dalla Gas Bubble Disease e dall'iperplasia tiroidea. Nella tabella 1 vengono schematizzati i principali reperti parassitari, batterici e micotici individuati nel corso del periodo d'osservazione.

REPERTI PARASSITARI, BATTERICI E MICOTICI	He	Ha	Hz	Hb	St	Sc	Sb	Pe	Pt
Peritrichi sessili	10	-	-	-	-	4	1	-	-
Scuticociliatida	-	-	-	-	-	-	1	1	1
Microspora- <i>Glugea</i> sp.	2	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Gyrodactylus</i> sp.	-	-	-	-	8	2	-	-	-
<i>Vibrio</i> spp.	7	9	4	2	-	5	-	-	-
<i>Aeromonas</i> spp.	6	-	-	-	-	4	-	-	-
<i>T. maritimum</i>	-	-	-	-	8	-	-	-	-
<i>Mycobacterium</i> spp.	9	-	-	-	9	1	1	-	-
<i>T. paurometabola</i>	-	-	-	2	-	-	-	-	-
<i>Cladosporium</i> spp.	1	-	4	1	-	-	-	-	-

Tabella 1: Principali reperti parassitari, batterici e micotici individuati nei Syngnathidae esaminati nel corso dell'indagine.

Table 1: Main parasitological, bacterial and mycological findings from Syngnathidae examined during the survey.

I reperti patologici ad eziologia parassitaria rinvenuti durante gli esami autoptici sono stati numerosi, alcuni rappresentati da organismi chiaramente opportunisti e d'irruzione secondaria rispetto a disordini metabolici o ad episodi primari infettivi (es. ciliati peritrichi sessili), altri da parassiti di indubbio carattere patogeno con segni clinici o lesioni ad essi riferibili, come nel caso di ciliati Scuticociliatida *Uronema*-like (Foto 1, 2 e 3) e di trematodi Monogenea del genere *Gyrodactylus* (Foto 7). Nel primo caso, oltre ad un episodio di scuticociliatosi cutaneo-branchiale, sono stati osservati due casi d'infezione sistemica in due dragoni marini stabulati in un sistema in cui si erano verificate repentine escursioni della temperatura a seguito di un malfunzionamento strutturale. L'intervento mirato a ripristinare le condizioni ottimali dell'acquario, in associazione ad operazioni di disinfezione dell'ambiente, ha dimostrato una buona efficacia nel risolvere la parassitosi negli altri animali presenti nello stesso sistema. Per quanto riguarda la girodattilosi, registrata in *S. scovelli* e *S. typhle*, il sovraffollamento in vasca si è dimostrato un importante fattore predisponente. A dimostrazione di ciò, l'allargamento dei soggetti stabulati, unitamente al loro trattamento con sostanze disinfettanti, ha permesso di controllare rapidamente la parassitosi. Fra gli altri reperti parassitari riscontrati sporadicamente nel corso dell'indagine vanno ricordati microsporidi riferibili al genere *Glugea* a livello cutaneo (Foto 5 e 6), flagellati del genere *Ichtyobodo* sp. a livello branchiale, mixosporidi del genere *Ceratomyxa* nella cistifellea, trematodi digenei e stadi larvali di *Proteocephalidae* a livello intestinale, questi ultimi reperiti solo in soggetti di recente importazione.

Tra gli agenti patogeni di natura batterica, nel corso dell'indagine sono stati isolati *Vibrio* spp., *Aeromonas* spp., *Tenacibaculum maritimum*, *Tsukamurella paurometabola* e *Mycobacterium* spp. In particolare *V. alginolyticus*, spesso in associazione ad *Aeromonas* spp. e *T. maritimum* sono stati frequentemente isolati in associazione a gravi lesioni cutanee (Foto 4) e branchiali (foto 8 e 9). Mentre l'isolamento di *V. alginolyticus* è stato condotto da tutte le specie del genere *Hippocampus* e da *S. scovelli*, *T. maritimum* è stato isolato solo da soggetti di *S. typhle*. Durante il periodo d'osservazione sono state osservate frequentemente infezioni sostenute da *Mycobacterium* spp. nei lotti di singnatidi stabulati nelle vasche di quarantena e soprattutto in soggetti di *H. erectus*, *S. typhle*, *S. scovelli* e *S. biaculeatus*. La

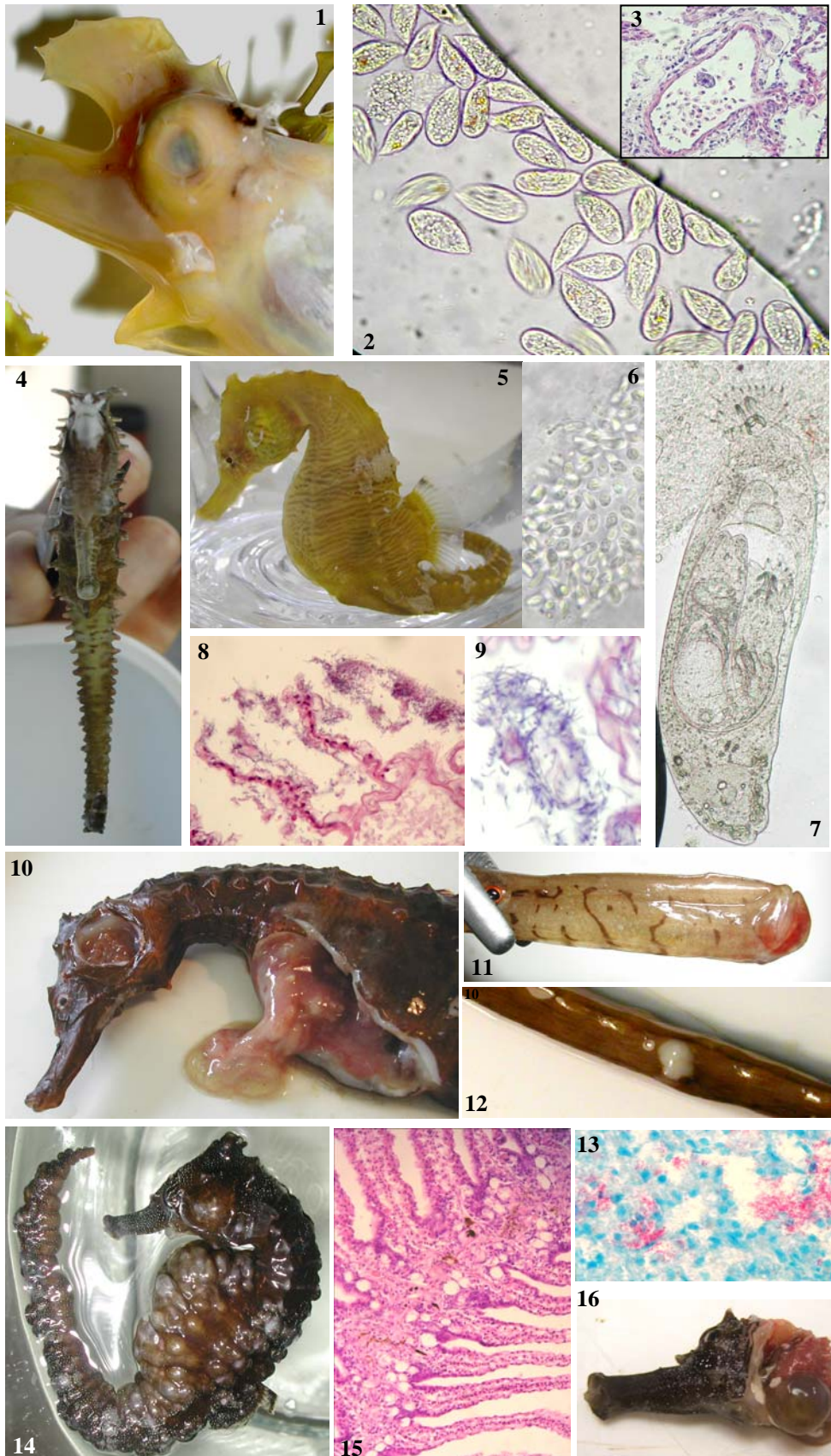
patologia osservata nei soggetti colpiti (Foto 10, 11, 12 e 13) era riconducibile al quadro tipico delle micobatteriosi ittiche, sebbene si siano spesso osservate lesioni nodulari a carico della cute oltre a quelle disseminate negli organi interni. Quando veniva riscontrata un'infezione da *Mycobacterium* spp. si procedeva allo stamping out del lotto colpito ed all'accurata disinfezione della vasca con prodotti a base di cloro. Infine gli esami micologici hanno permesso di isolare da 5 soggetti, a livello cutaneo, *Cladosporium* spp., un ifomicete ambientale che rappresenta probabilmente un semplice contaminante di lesioni preesistenti.

Fra le patologie non infettive la "gas bubble disease" (Foto 14 e 15) e l'iperplasia tiroidea (Foto 16) sono risultate le problematiche sanitarie più importanti, a conferma dell'esigenza di approfondire le conoscenze tecnico-scientifiche inerenti le esigenze dei singnatidi in cattività. La "gas bubble disease" nei cavallucci marini si può presentare in forme diverse, alcune comuni quali la sovradistensione del marsupio del maschio e gli enfisemi sottocutanei nella regione caudale, altri meno frequenti come l'iperinsufflazione della vescica natatoria e gli enfisemi sottocutanei nella regione della testa. La specie più colpita è risultata essere *H. erectus*. Il trattamento di questa patologia può essere condotto con successo mediante somministrazione di inibitori dell'anidasi carbonica nel caso degli enfisemi sottocutanei e mediante cateterismo manuale nel caso della sovradistensione del marsupio.

L'iperplasia tiroidea, nota anche come "gozzo", macroscopicamente si manifesta con un aumento del volume della camera branchiale per la presenza di formazioni sacciformi bilaterali dovute all'iperplasia del tessuto tiroideo. Per controllare e prevenire questo fenomeno si procede con l'integrazione di iodio per via alimentare e per bagno. La specie maggiormente colpita da questa patologia si è dimostrata *H. erectus*.

Tavola 1 - Foto 1-2-3: Infezione sistemica da Scuticociliatida *Uronema*-like: cheratite (1); numerosi ciliati *Uronema*-like in raschiato cutaneo, esame microscopico a fresco (80x) (2); ciliato *Uronema*-like nel lume di vaso epatico, sezione istologica (EE, 40x) (3); Foto 4: Erosioni cutanee a livello del cranio in corso di infezione da *Vibrio alginolyticus*; Foto 5-6: Lesioni cutanee da microsporidi (5), spore di microsporidi evidenziabili nelle lesioni, esame microscopico a fresco (100x) (6); Foto 7: Esemplare di *Gyrodactylus* spp. da cute (40x); Foto 8-9: quadro istologico di branchie con massiva presenza di batteri filamentosi riconducibili a Flavobacteriaceae; si osserva marcato sfaldamento dell'epitelio sino a totale distruzione delle lamelle (8, EE; 9, Giemsa, 40x); Foto 10-11-12-13: Micobatteriosi - noduli giallastri (freccie) visibili macroscopicamente all'apertura della cavità celomatica (10); lesioni emorragico-necrotiche a carico della zona buccale (11), nodulo cutaneo a livello della regione caudale (12), sezione istologica di fegato con presenza di numerosi batteri acido-alcool resistenti (ZN, 40x) (13); Foto 14-15: Gas bubble disease - enfisema sottocutaneo (14), sezione istologica di branchie con embolia gassosa (EE, 40x) (15); Foto 16: ingrossamento sacciforme bilaterale della tiroide in *H. erectus* affetto da iperplasia tiroidea.

Table 1 - Photos 1-2-3: Systemic infection due to Scuticociliatida *Uronema*-like: keratitis (1); several ciliates *Uronema*-like in skin scraping, microscopical exam (80x) (2); ciliate *Uronema*-like in the lumen of a liver vessel, histological section (H&E, 40x) (3); Foto 4: Skin lesions on the head in *Vibrio alginolyticus* infection; Photos 5-6: skin lesions due to microsporidia (5), spores of microsporidia from lesions, fresh microscopical exam (100x) (6); Photo 7: *Gyrodactylus* spp. from skin (40x); Photos 8-9: histological sections of gills with massive presence of filamentous bacteria referable to Flavobacteriaceae; epithelium is heavily sloughed off up to complete destruction of lamellae (8, H&E; 9, G, 40x); Photos 10-11-12-13: Micobacteriosis - yellowish nodules (arrows) well visible at opening of the body cavity (10); hemorrhagic-necrotic lesions in the mouth region (11), skin nodule in the caudal region (12), histological section of liver with presence of numerous acid fast bacteria (ZN, 40x) (13); Photos 14-15: Gas bubble disease - subcutaneous emphysema (14), histological section of gills with gas bubbles (H&E, 40x) (15); Photo 16: bilateral sacciform enlargement of thyroid gland in *H. erectus* with thyroid hyperplasia.



DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Va innanzitutto evidenziato come la maggior parte delle patologie riscontrate nei Syngnathidae esaminati nel corso di un anno di indagine sia apparsa sostenuta da patogeni opportunisti che, nelle condizioni artificiali proprie dell'acquario (alimentazione forzata, parametri dell'acqua spesso non ottimali, ecc.) trovano numerosi fattori predisponenti l'insorgenza di stati di malattia.

A tal riguardo vanno ad esempio annoverati i ciliati dell'ordine Scuticociliatida che si sono dimostrati capaci di causare gravi infezioni superficiali e sistemiche in presenza di traumatismi cutanei e/o di fluttuazioni anche minime della temperatura dell'acqua (Cheung *et al.*, 1980). Parimenti, ciliati peritrichi sessili sono stati osservati anche ad alte intensità d'infezione in soggetti che presentavano infezioni batteriche preesistenti o condizioni d'iperplasia tiroidea. Anche per quanto concerne gli agenti batterici isolati nel corso di questa ricerca va messo in evidenza come quelli più frequenti siano stati *V. alginolyticus*, *Vibrio* spp., *Aeromonas* spp., ritenuti tipici patogeni opportunisti in condizioni di stabulazione forzata e di stati di stress nell'ospite (Koldewey, 2005). Per quanto concerne i micobatteri atipici va evidenziato come anche questi saprofiti siano stati isolati, seppur con notevole frequenza, sempre da soggetti stabulati nel sistema di quarantena, ad indice della necessità di operare sempre attenti controlli sugli animali di nuova introduzione al fine di prevenirne l'ingresso nei settori espositivi. L'importanza di questi microrganismi in ambiente d'acquario è infatti da non sottovalutare, in quanto lo stato di stress cronico in cui vivono gli animali qui stabulati, unitamente alle condizioni forzate di ricircolo e di equilibrio dei parametri dell'acqua, possono facilmente scatenare l'insorgenza delle micobatteriosi quali gravi patologie croniche in grado di provocare notevoli perdite e mortalità (Snieszko, 1978). Inoltre l'impossibilità di condurre trattamenti risolutivi negli animali colpiti conduce in genere alla necessità di effettuare l'eradicazione della malattia con *stamping out* di pesci di grande valore quali tipicamente i Syngnathidae, vuoti sanitari e disinfezioni estremamente dannose per i vegetali e gli invertebrati presenti nell'acquario. L'isolamento sporadico di *T. paurometabola* dovrà essere meglio studiato in futuro per poterne definire l'esatto significato sanitario (Florio *et al.*, 2004).

Tra gli agenti parassitari che possono essere considerati patogeni primari vanno invece annoverati i monogenei del genere *Gyrodactylus*, che hanno causato pesanti infestazioni in alcuni soggetti di Syngnathidae. Sebbene l'insorgenza della girodattilosi venga in genere correlata al sovraffollamento in vasca, nell'ambiente chiuso dell'acquario anche l'introduzione di un solo soggetto parassitato può rappresentare il punto di partenza di gravi infestazioni a causa del ricircolo dell'acqua e dello stretto contatto tra gli animali stabulati, con facile passaggio del parassita da un ospite all'altro.

Fra le patologie non infettive l'iperplasia tiroidea e la "gas bubble disease" sono risultate le problematiche sanitarie più importanti, a conferma della necessità di approfondire le informazioni scientifiche inerenti le esigenze nutrizionali ed ambientali dei Syngnathidae in modo da impostare un'idonea profilassi volta a prevenire l'insorgenza di queste malattie.

In linea generale le patologie osservate nei Syngnathidae stabulati a scopo ornamentale sono state in gran parte poste in relazione a patogeni opportunisti e/o a stati carenziali dell'ospite, indicando come prioritario il miglioramento delle conoscenze sulle tecniche di gestione in cattività di questi delicati teleostei, in modo da rispettarne maggiormente il benessere e garantirne quindi le condizioni di immunocompetenza.

Appaiono infine di estrema importanza la corretta gestione del sistema di quarantena e la costante attenzione sanitaria verso tutti i settori del parco acquatico al fine di prevenire l'ingresso di patologie infettive e parassitarie ed evitarne il propagarsi alle diverse vasche di stabulazione.

BIBLIOGRAFIA

Cheung P.J., Nigrelli R.F. & Ruggieri G.D. (1980). Studies on the morphology of *Uronema marinum* Dujardin (Ciliata: Uronematidae) with a description of the histopathology of the infection in marine fishes. *J. Fish Dis.*, 3: 295-303.

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. *Abstract XI Convegno Nazionale S.I.P.I., Finale Ligure (SV): 27.*

Koldewey H. (2005). Syngnathid husbandry in public aquariums, 2005 Manual. *Zoological Society of London, London, UK: 1-137.*

Kuiter R.H. (2003). Seahorse, pipefish and their relatives, a comprehensive guide to Syngnathiformes. *TMC Publishing, Chorleywood, UK: 2-7.*

Snieszko S.F. (1978). Mycobacteriosis (Tuberculosis) of fishes. *Fish and Wildl. Serv. Div. of Fishery Res., Washington D.C.*